Série A, N° 975
N° d'ordre
1 000

# THÈSES

PRÉSENTÉES A

## LA FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

POUR OBTENIR
LE TITRE DE DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS
(MENTION SCIENCES)

par

**Amine KEYVANFAR**

---

1re THESE. — **Sérologie et immunologie de deux espèces de thonidés (*Germo alalunga* Gmelin et *Thunnus thynnus* Linné) de l'Atlantique et de la Méditerranée.**

2e THESE. — **Propositions données par la Faculté.**

*Soutenues le 10 avril 1962 devant la Commission d'examen.*

MM. G. TEISSIER, *Président*
Ch. DEVILLERS, P. MOREL } *Examinateurs*
J. FURNESTIN, *Invité*

---

PARIS
INSTITUT SCIENTIFIQUE ET TECHNIQUE DES PÊCHES MARITIMES
59, avenue Raymond-Poincaré

1962

Série A, n° 975
N° d'ordre
1 000

# THÈSES

PRÉSENTÉES A

## LA FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

POUR OBTENIR
LE TITRE DE DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS
(MENTION SCIENCES)

par

**Amine KEYVANFAR**

---

1re THESE. — **Sérologie et immunologie de deux espèces de thonidés (*Germo alalunga* Gmelin et *Thunnus thynnus* Linné) de l'Atlantique et de la Méditerranée.**

2e THESE. — **Propositions données par la Faculté.**

*Soutenues le 10 avril 1962 devant la Commission d'examen.*

MM. G. TEISSIER, *Président*
Ch. DEVILLERS, P. MOREL } *Examinateurs*
J. FURNESTIN, *Invité*

---

PARIS
INSTITUT SCIENTIFIQUE ET TECHNIQUE DES PÊCHES MARITIMES
59, avenue Raymond-Poincaré

1962

R. UNIV. BIBLIOTHEEK LEIDEN

# FACULTE DES SCIENCES DE L'UNIVERSITE DE PARIS

## PROFESSEURS

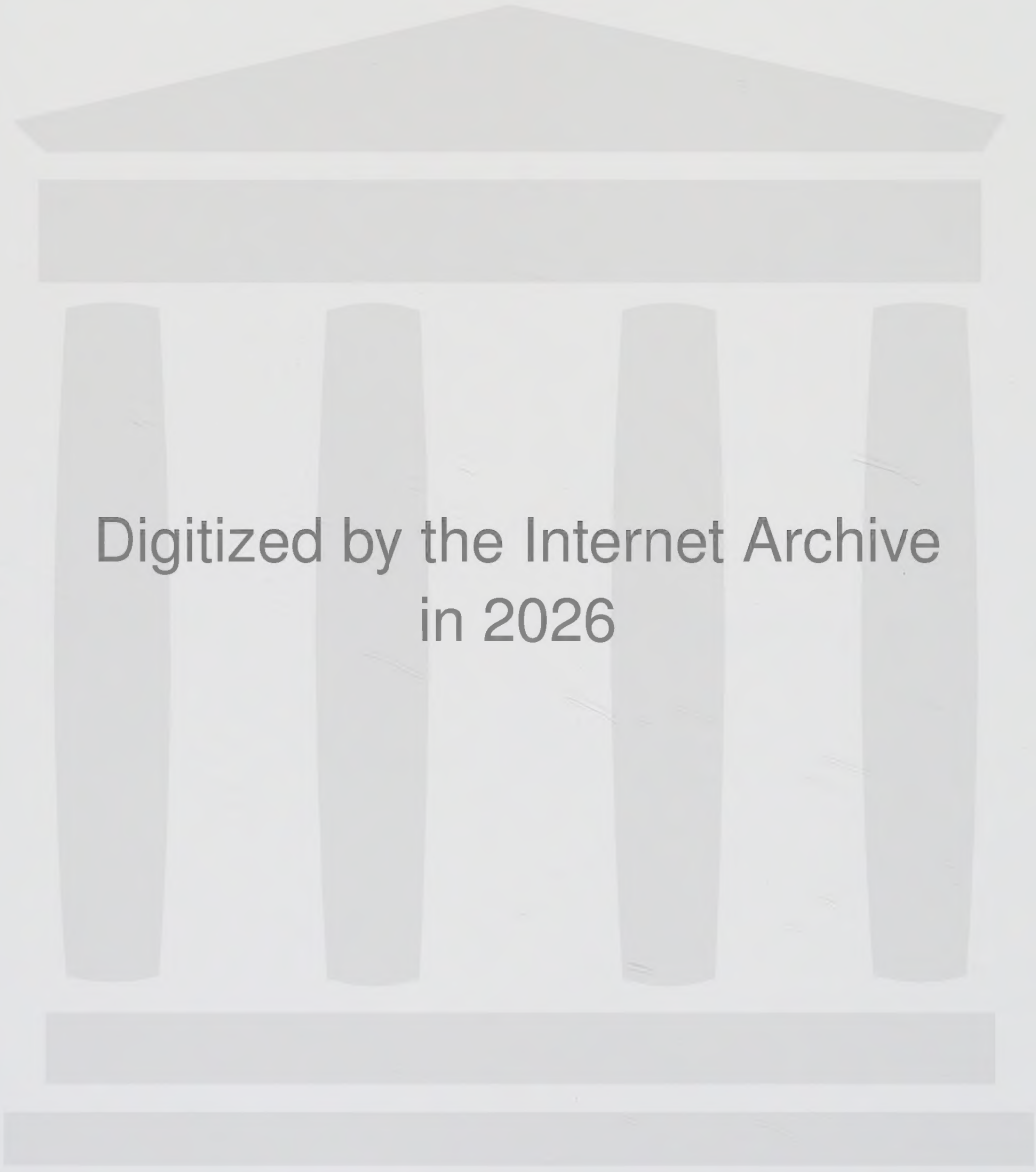
*Doyen*..... M. ZAMANSKY

| | | |
|---|---|---|
| G. JULIA | T | Analyse sup. et Algèbre sup. |
| DE BROGLIE | T | Théories physiques |
| PRENANT | T | Anatomie et Histol. comp. |
| GRASSÉ | T | Evol. des êtres organisés |
| PRÉVOST | T | Chimie organique |
| CHAUDRON | T | Chimie appliquée |
| WYART | T | Minéralogie et Cristal. |
| TEISSIER | T | Zoologie |
| MANGENOT | T | Biologie vég. (Orsay) |
| AUGER | T | Phys. quantique et Relativité |
| MONNIER | T | Physiologie générale |
| PIVETEAU | T | Paléontologie |
| ROCARD | T | Physique (E.N.S.) |
| CARTAN | T | Mathématiques (E.N.S.) |
| LAFFITTE | T | Chimie générale |
| FAVARD | T | Géométrie supérieure |
| COULOMB | T | Physique du Globe |
| Mlle COUSIN | T | Biologie animale (S.P.C.N.) |
| CHRÉTIEN | T | Chimie minérale |
| DRACH | T | Zoologie |
| KASTLER | T | Physique (E.N.S.) |
| EPHRUSSI | T | Génétique |
| RIVIÈRE | T | Géologie (S.P.C.N.) et Sédim. |
| GAUTHERET | T | Biologie vég. (P.C.B.) |
| LUCAS R. | T | Recherches physiques |
| THOMAS A. | T | Biologie cellulaire |
| ARNULF | T | Optique appliquée |
| MORAND | T | Physique Enseignement |
| SOLEILLET | T | Physique (P.C.B.) |
| FORTIER | T | Mécanique exp. des Fluides |
| DANJON | T | Astronomie |
| PETIT | T | Biologie maritime |
| QUENEY | T | Météor. et Dynam. atmosphér. |
| GALLIEN | T | Embryologie |
| EICHHORN | T | Botanique |
| DE CUGNAC | T | Biologie vég. (S.P.C.N.) |
| Mlle CAUCHOIS | T | Chimie physique |
| THELLIER | T | Physique du Globe |
| L'HÉRITIER | T | Biologie générale (Orsay) |
| GRIVET | T | Radioélectricité (Orsay) |
| PONCIN | T | Mécanique générale |
| DUBREIL | T | Arith. et Théor des nombres |
| QUELET | T | Chimie organique |
| CAGNIARD | T | Géophysique appliquée |
| CHAMPETIER | T | Chimie macromoléculaire |
| CUVILLIER | T | Micropaléontologie |
| JUNG | T | Pétrographie |
| TRILLAT | T | Microscop. et Diffract. électr. |
| WIEMANN | T | Chimie organ. et structur. |
| JACQUINOT | T | Spectrosc. Phys. céleste (Orsay) |
| VASSY | T | Physique de l'atmosphère |
| DESTOUCHES | T | Théories physiques |
| AMIEL | T | Chimie générale |
| HOCART | T | Minéralogie et Cristallog. |
| J. P. MATHIEU | T | Physique (Optique) |
| COUTEAUX | T | Biologie animale (P.C.B.) |
| MAY | T | Zoologie (Orsay) |
| CHOQUET | T | Théor. des fonctions et Topol. |
| FELDMANN | T | Biologie vég. marine |
| GUINIER | T | Phys. des Solides (Orsay) |
| JOST | T | Physiologie comparée |
| FORTET | T | Calc. des Prob. et Phys. math. |
| SCHWARTZ | T | Calcul diff. et intégral |
| CHOUARD | T | Physiologie vég. |
| MALAVARD | T | Aviation (Techn. aéronaut.) |
| BRELOT | T | Calcul diff. et intégral |
| NORMANT | T | Synthèse organique génér. |
| BÉNARD | T | Chimie minérale |
| BUVAT | T | Botanique (E.N.S.) |
| DUGUÉ | T | Statistiques mathématiques |
| SOULAIRAC | T | Psychophysiologie |
| ULRICH | T | Physiologie vég. |
| MARÉCHAL | T | Optique théorique et appl. |
| KIRRMANN | T | Théories chimiques |
| CHADEFAUD | T | Botanique |
| Mlle LE BRETON | T | Physiologie de la nutrit. |
| SALEM | T | Mathématiques générales |
| LELONG | T | Applic. de l'Analyse à la Géom. |
| DEVILLERS | T | Anatomie et Histol. comp. |
| EHRESMANN | T | Topologie algébrique |
| FRANÇON | T | Physique (S.P.C.N.) |
| GLANGEAUD | T | Géogr. phys. et Géol. dynam. |
| GODEMENT | T | Mathématiques (M.P.C.) |
| PISOT | T | Techn. math. de la Phys. |
| ROCH | T | Géologie |
| SCHATZMAN | T | Astrophysique |
| TERMIER | T | Paléontologie stratig. |
| ZAMANSKY | T | Mathématiques générales |
| LENNUIER | T | Physique (M.G.P.) |
| RIZET | T | Génétique (Orsay) |
| ROUTIFIER | T | Géologie appliquée |
| Mme TONNELAT | T | Physique théorique |
| DIXMIER | T | Mathématiques (M.P.C.) |
| SOUCHAY | T | Chimie générale |
| AIGRAIN | T | Electrotechnique génér. |
| BRUSSET | T | Chimie systématique |
| M. LÉVY | T | Phys. théor. htes Energ. (Orsay) |
| Mme CHAIX | T | Chimie biologique |
| Mme HUREL-PY | | Biologie végétale (P.C.B.) |
| PIAUX | T | Chimie (M.P.C.) |
| BRUN | T | Mécan. théor. des Fluides |
| LEDERER | T | Chimie biologique |
| Mme DUBREIL | T | Mathém. (Agrégation) |
| Mme LELONG | T | Mathématiques (E.N.S.) |
| BELLAIR | T | Géologie (S.P.C.N.) |
| COTTE | T | Physique électricité |
| DUBOIS J. E. | T | Chimie organique |
| LAMOTTE | T | Zoologie (E.N.S.) |
| MICHEL A. | T | Chimie minérale (Orsay) |
| OLMER | T | Energétique générale |
| ROUAULT | T | Electricité (Orsay) |
| GAUTHIER | T | Mécanique appliquée |
| BARCHEWITZ | T | Chimie physique |
| BROSSEL | T | Physique atomique |
| BUSER | T | Physiologie comparée |
| CAMUS | T | Physiologie vég. (B.M.P.V.) |
| CASTAING | T | Physique (Orsay) |
| CURIEN | T | Minéralog. et Cristallog. |
| MOYSE | T | Physiologie vég. (Orsay) |
| NOIROT | T | Evol. des êtres organisés |
| PANNETIER | T | Chimie générale (Orsay) |
| POSSOMPES | T | Zoologie |
| PULLMANN | T | Chimie théorique |
| TEILLAC | T | Phys. nucl. et Radioact. |
| TONNELAT | T | Biologie physico-chim. |
| VILLE | T | Econométrie |
| WILLEMART | T | Chimie (P.C.B.) |
| DODE | T | Chimie (Orsay) |
| FREYMANN | T | Recherches physiques |
| GUINOCHET | T | Biol. vég. (S.P.C.N.) (Orsay) |
| ROLLET | T | Chimie (P.C.B.) |
| Mlle JOSIEN | T | Chimie (S.P.C.N.) |
| CHEVALLEY | T | Géom. algébr. Théor. des groupes |
| ARNOULT | T | Electronique (Orsay) |
| CHAPELLE | T | Physique (Orsay) |
| DELANGE | T | Mathématiques (Orsay) |
| DENY | T | Mathématique génér. (Orsay) |
| GERMAIN | T | Mécan. théor. des Fluides |
| LUCAS G. | T | Géologie |
| ALLARD | T | Chimie physique |
| BERTHELOT | T | Phys. fond. htes Energ. (Orsay) |
| BRICART | T | Météor. et Phys. de l'Atmosphère |
| Mme ALBE-FESSARD | T | Psychophysiologie |
| FRIEDEL | T | Phys. des Solides (Orsay) |
| M. JULIA | | Etude des Moléc. nat. complexes |
| LENDER | T | Biol. anim. (S.P.C.N.) (Orsay) |
| MAGAT | | Phys.-chimie des radioélém. |
| Mlle QUINTIN | T | Electrochimie |
| MONOD | T | Chimie du métabolisme |
| BENOIT | T | Physiol. anim. (Orsay) |
| DE POSSEL | T | Analyse numérique |
| CHARLOT | T | Chimie analytique |
| HAISSINSKY | T | Radiochimie |
| LEMÉE | T | Physiol. vég. (BMPV) (Orsay) |
| GUÉRIN | T | Chimie (M.P.C.) (Orsay) |
| CHATELET M. | T | Chimie (P.C.B.) |
| JEAN | T | Physique nucléaire (Orsay) |
| MATTLER | T | Physique (S.P.C.N.) |
| MICHEL L. | | Phys. théor. htes Energ. (Orsay) |
| BERGERARD | T | Zoologie (Orsay) |
| BERTEIN | T | Electronique (Orsay) |
| BOUISSIÈRES | | Chimie des radioélém. (Orsay) |
| Mme COUTURE | T | Thermodynamique et Méc. Phys. |
| ELLENBERGER | T | Géol. appl. sur le terrain |
| FRANC | | Biol. anim. (P.C.B.) |
| SCHNELL | | Botanique tropicale (Orsay) |
| STOLKOWSKI | | Physiologie générale |
| ACHER | | Chimie Biol. (Orsay) |
| BAUDOIN | | Biologie anim. (P.C.B.) |
| BEAUMONT | | Biologie anim. (S.P.C.N.) |
| BLAMONT | T | Géophysique Ionosphère |
| BOURREAU | | Botanique |
| CURIE D. | | Physique (M.G.P.) |
| DURAND-DELGA | | Géologie |
| FRÉON | T | Chimie organique (Orsay) |
| HELLER | T | Physiologie vég. |
| TORTRAT | T | Calcul des Probabilités |
| CAILLEUX | | Géologie (S.P.C.N.) |
| MAGNAN | T | Physique (S.P.C.N.) |
| DAUDEL | T | Méc.ond.appl.Chim.th.Phys.nucl. |
| Mlle FOURCROY | | Biol. vég. (S.P.C.N.) |
| Mme CHOQUET-BRUHAT | T | Méc. anal. et Méc. céleste |
| Mlle VEIL | | Physiologie générale |
| LWOFF | T | Microbiologie |
| SIESTRUNCK | T | Mécan. phys. et expér. |
| LACOMBE | T | Métallur. des métaux nucl. |
| BROCHARD | T | Physique (P.C.B.) (Orsay) |
| CABANNES | T | Mécanique générale |
| LESIEUR | T | Mathématiques (M.P.C.) (Orsay) |
| MAZET | T | Mécanique générale (Orsay) |
| CAIRE | | Géogr. phys. et Géol. dynam. |
| COMOLET | T | Mécanique des Fluides |
| CORABŒUF | | Physiologie anim. |
| DELLOUE | | Physique de l'exosphère |
| GORENFLOT | | Botanique II (Orsay) |
| HOUILLON | | Biologie anim. (P.C.B.) |
| JULLIEN J. | | Chimie (P.C.B.) |
| MALGRANGE | T | Tech. math. de la Phys. |
| OLIVIER | | Anthropologie |
| NOZERAN | T | Botanique II (Orsay) |
| BLANC-LAPIERRE | | Physique (E.N.S.) (Orsay) |
| CHEVAUGEON | T | Botanique (Orsay) |
| KAHANE | T | Mathématiques (Orsay) |
| SAMUEL | T | Mathématiques E.N.S. féminine |
| KOURGANOFF | T | Astronomie (Orsay) |
| THIRY | T | Mécanique céleste |

*Secrétaire général*..... R. POULLAIN

# SÉROLOGIE ET IMMUNOLOGIE DE DEUX ESPÈCES DE THONIDÉS ( GERMO ALALUNGA GMELIN ET THUNNUS THYNNUS LINNE ) DE L'ATLANTIQUE ET DE LA MEDITERRANEE

par Amine KEYVANFAR


Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41538117_0035

# SÉROLOGIE ET IMMUNOLOGIE DE DEUX ESPÈCES DE THONIDÉS (*GERMO ALALUNGA* GMELIN ET *THUNNUS THYNNUS* LINNÉ) DE L'ATLANTIQUE ET DE LA MÉDITERRANÉE

## SOMMAIRE


Pages

Avant-Propos ..... 7
Généralités ..... 9
Matériel étudié. Techniques de prélèvement et de conservation du sang ..... 10
1° Matériel étudié ..... 11
2° Technique de prélèvement du sang ..... 11
3° Préparation et conservation des échantillons ..... 12

PREMIÈRE PARTIE

RECHERCHE DES GROUPES SANGUINS

**Méthode de recherche des groupes sanguins du thon** ..... 17
**Résultats** ..... 18
1° *Germons de l'Atlantique* ..... 18
2° *Germons de la Méditerranée* ..... 19
3° *Thons rouges de l'Atlantique et de la Méditerranée* ..... 22

SECONDE PARTIE

ÉTUDE ÉLECTROPHORÉTIQUE ET IMMUNOLOGIQUE DES PROTÉINES SÉRIQUES

CHAPITRE I

ETUDE DU SERUM PAR ELECTROPHORESE EN GELOSE 23

**Principe de l'électrophorèse** ..... 24
**Appareil d'électrophorèse** ..... 24

Pages

**Electrophorèse en gélose** ..... 25
1° *Techniques annexes* ..... 26
2° *Mode opératoire* ..... 27
**Résultats** ..... 29
1° *Protéinogrammes* ..... 29
2° *Lipoprotéinogrammes* ..... 35

CHAPITRE II

ETUDE IMMUNOLOGIQUE DES PROTEINES SERIQUES 37

**Matériel** ..... 37
**Mode opératoire** ..... 37
**Résultats** ..... 38
1° *Différence antigénique entre germon et thon rouge* ..... 38
2° *Différence antigénique entre les germons de l'Atlantique et de la Méditerranée* .. 38
3° *Différences antigéniques entre les thons rouges de l'Atlantique et de la Méditerranée* 38
**Conclusion** ..... 38

CHAPITRE III

ANALYSE IMMUNOELECTROPHORETIQUE DES FRACTIONS PROTEIQUES DU SERUM 42

**Matériel** ..... 42
**Mise en œuvre de l'immunoélectrophorèse** ..... 42
**Résultats** ..... 43
1° *Germon* ..... 43
2° *Thon rouge* ..... 45
3° *Rapport antigénique entre les sérums de germon et de thon rouge* ..... 46
**Conclusion** ..... 50

RÉSUMÉ ET CONCLUSION GÉNÉRALE 50

1° *Groupes sanguins* ..... 51
2° *Electrophorèse en gélose* ..... 51
3° *Immunologie* ..... 51
4° *Analyse immunoélectrophorétique* ..... 51

BIBLIOGRAPHIE ..... 53

TABLE DES FIGURES ..... 57

# AVANT-PROPOS

*C'est le Dr* ARDALAN, *Professeur à l'Université de Téhéran, qui, en* 1955, *a dirigé ma première thèse « Classification et biologie des esturgeons de la Caspienne » à la Faculté vétérinaire de Téhéran et qui m'a encouragé à poursuivre en France l'étude de la biologie des poissons, dans le pays où lui-même a fait ses études supérieures ; qu'il veuille bien trouver, au début de ce travail, l'expression de toute ma gratitude.*

*Je ne saurais oublier la bienveillance de l'accueil de M. le Professeur* TEISSIER *qui a accepté de présider le jury de cette thèse, après m'avoir guidé dans mes recherches et m'avoir présenté à l'Institut scientifique et technique des Pêches maritimes pour que je puisse y trouver possibilité de mener à bien ce travail. Qu'il me soit permis de lui exprimer ma reconnaissance respectueuse.*

*M. le Dr* J. FURNESTIN, *Directeur de l'Institut scientifique et technique des Pêches maritimes, à qui je dois l'initiative de ce travail, a bien voulu m'accueillir dans les laboratoires de son Institut et me prodiguer les marques d'un intérêt toujours bienveillant. Pendant la durée de ces recherches, il n'a cessé de m'encourager, mettant à ma disposition des moyens matériels de premier ordre et me témoignant une attention et une sollicitude auxquelles j'ai été très sensible. Je tiens à lui adresser l'expression de ma profonde gratitude.*

*Mlle le Dr* STAUB, *Chef de laboratoire à l'Institut Pasteur, a été mon professeur aux cours d'Immunologie et de sérologie à l'Institut Pasteur ; elle m'a présenté aux différents services de cet Institut, m'a apporté un soutien constant durant mes études immunologiques et, tout au long de ces recherches, m'a fait bénéficier de sa grande compétence. Qu'elle veuille bien accepter les remerciements et les hommages respectueux de son élève.*

*Une partie de ce travail a été faite dans les laboratoires de M. le Dr* GRABAR, *Chef de service à l'Institut Pasteur de Paris, qui a également été mon professeur et a bien voulu m'admettre comme stagiaire de recherches immunologiques spéciales dans son service, où j'ai pu me familiariser avec la pratique de sa propre méthode (analyse immuno-électrophorétique). Je lui exprime ma profonde reconnaissance et mes sentiments respectueux. Je dois beaucoup également à Mlle* COURCON, *technicienne du Dr* GRABAR, *pour son appui efficace et ses conseils techniques éclairés dont je lui suis très reconnaissant.*

*Je remercie très vivement Mme le Dr* PODLIACHOUK, *Chef de laboratoire à l'Institut Pasteur, dont j'ai suivi les cours et qui, pendant mon stage dans son laboratoire, a bien voulu m'initier à de nombreuses techniques sérologiques sur la recherche des groupes sanguins.*

*J'adresse mes remerciements respectueux à M. le Professeur* DEVILLERS *qui a accepté de faire partie du jury de cette thèse. J'adresse également l'expression de ma profonde gratitude à M. le Professeur* MOREL *qui a bien voulu s'intéresser à ces recherches et me faire l'honneur de juger mon travail.*

*Au cours de mes séjours au laboratoire de l'Institut des Pêches maritimes à Sète, M.* MAURIN, *Chef de ce laboratoire, m'a donné toutes facilités pour me procurer du matériel et s'est toujours montré accueillant à mon égard en me faisant profiter de ses précieux conseils ; je l'en remercie très vivement.*

*Je dois beaucoup à MM.* VINCENT *et* DARDIGNAC, *Chefs de laboratoire à l'Institut des Pêches maritimes, qui m'ont aidé avec beaucoup de dévouement et de sympathie dans la préparation et la présentation de cette thèse. Qu'ils trouvent ici l'expression de tous mes remerciements.*

*Je me dois enfin de remercier Mme* Cl. AVRAMEAS, *M. le Dr* LAPRESLE, *Mlle* CHRISTOL, *Mme le Dr* DAOULAS, *de l'Institut Pasteur, M.* BRENOT, *Commandant du navire océanographique « Thalassa », M.* LETACONNOUX, *Mlle* SOUDAN, *M.* KURC, *Mlle* Du BUIT *et M.* PERRAIN, *de l'Institut des Pêches maritimes qui, à des titres divers, m'ont apporté des facilités pendant mes recherches et la préparation de ma thèse.*

# GÉNÉRALITÉS

BORDET, qui a posé les fondements de la sérologie moderne, a montré que le sérum d'un animal agglutine généralement les globules rouges d'un animal d'espèce différente. La découverte de la spécificité sérologique a conduit logiquement à se demander si, à côté des différences qui séparent les espèces, il n'en existerait pas de moindres, à l'intérieur d'une même espèce.

Ce problème a été résolu pour la première fois par LANDSTEINER qui a trouvé, en 1900, que les globules rouges d'animaux d'une espèce déterminée peuvent être agglutinés par le sérum de certains individus de cette même espèce, et qu'il existe par conséquent différents groupes de sang dans une même espèce. Sa première découverte a été celle du système des groupes AB0 chez l'Homme. Ce résultat traduit la présence dans les globules rouges humains de substances, les antigènes érythrocytaires, qui créent des différences individuelles et dont la grande importance va se révéler par la suite.

Les études faites par les anthropologistes, ont montré que les races humaines pouvaient être caractérisées par l'observation de la fréquence des différents groupes de ce système AB0.

Ces constatations ont entraîné de nombreuses recherches sérologiques sur diverses espèces d'animaux domestiques (FERGUSON, 1941 ; OWEN *et al.*, 1947 ; BRILES *et al.*, 1950 ; STORMONT *et al.*, 1951 ; DUJARRIC DE LA RIVIÈRE *et al.*, 1952 ; SCHEINBERG, 1956 ; PODLIACHOUK, 1957).

La question s'est également posée de savoir si cette étude des groupes sanguins pouvait apporter la solution de certains problèmes raciaux que pose la biologie des poissons.

CUSHING, le premier, en 1951, au début d'un rapport sur la différenciation sérologique des sangs chez les poissons, exprime « le besoin de méthodes permettant de distinguer aisément des groupements raciaux au sein d'une même espèce de poisson ». C'est la raison qui lui fait entreprendre l'étude des propriétés du sang de ces vertébrés, avec l'espoir d'y découvrir des différences individuelles ; de telles différences contribueraient à préciser la notion de race, à vérifier la valeur de celles déjà établies pour certaines espèces et aideraient à suivre les poissons migrateurs dans leurs déplacements.

Entre 1951 et 1961, CUSHING, travaillant seul ou en collaboration, poursuit ses recherches sur différents groupes animaux. Chez les poissons, elles concernent le plus souvent les thonidés ; dès 1952 il montre la présence d'hémagglutinines naturelles dans le sang de *Neothunnus macropterus* et de *Katsuwonus pelamis*. A partir de 1959, il publie des résultats obtenus sur les baleines avec FUJINO qui en avait commencé l'étude depuis 1953 .

C'est à partir de 1958 que SUZUKI et ses collaborateurs détectent l'existence de groupes sanguins chez quelques espèces de thons de l'Océan pacifique et de l'Océan indien et, pour les deux mers, observent des différences dans leur fréquence.

Enfin d'autres auteurs se sont également préoccupés des groupes sanguins des poissons : SINDERMANN et MAIRS, par exemple, chez les harengs du golfe du Maine ( 1959 ) et chez un squale ( 1961 ) ; SINDERMANN ( 1961 ) chez les sébastes.

Il existe d'autres techniques susceptibles de révéler les différences entre les individus de même espèce : ce sont les techniques de l'immunologie des protéines sériques.

Depuis le début du siècle, les propriétés antigéniques de ces protéines sériques ont été souvent utilisées pour préciser les relations phylogénétiques existant entre les espèces animales (NUTALL, 1904) y compris les poissons (GEMEROY, 1943 ). Après la découverte des réactions immunologiques en milieu gélifié par diffusion simple (OUDIN, 1946 ) ou par diffusion double (OUCHTERLONY, 1949 ),

ces études ont été poursuivies. En ce qui concerne les poissons, O'Rourke ( 1961 ) a mis en œuvre la méthode d'Ouchterlony pour vérifier la valeur de certaines espèces douteuses de sébastes des mers nordiques.

Cependant les différences intraspécifiques dans les propriétés antigéniques des protéines n'ont été que rarement utilisées pour la recherche des races (Zaks et Sokolova, 1961 ). Au sujet de l'étude raciale des thonidés, nous n'avons trouvé qu'une seule référence sur l'emploi de la méthode d'Ouchterlony ; par cette technique, Suzuki et Morio ( 1959 ), travaillant sur les thons de l'Océan indien, ont découvert une différence individuelle chez l'albacore.

En France, la recherche sérologique en vue de l'étude de la biologie des poissons a été appliquée tout d'abord par Clerc et Lee ( 1960 ), pour différencier les groupements de sardines du golfe du Lion et suivre leurs déplacements.

A notre connaissance, aucune recherche de ce genre n'a encore été faite concernant les thonidés des côtes atlantiques et méditerranéennes d'Europe. Or, si les espèces en sont bien connues et définies, il n'en est pas de même de leurs migrations.

Parmi ces thonidés deux ont retenu notre attention, le thon rouge -*Thunnus thynnus* (L.) - et le germon - *Germo alalunga* (Gml.) - à cause des particularités de leur répartition.

Le thon rouge de la Méditerranée est connu depuis la plus haute antiquité. Pour certains auteurs, Roule notamment, il est différent de celui de l'Atlantique et constitue une variété particulière. D'autres pensent que les thons rouges ne peuvent être subdivisés en races et qu'il existe des échanges importants entre les populations atlantiques et méditerranéennes. Tout récemment, en 1960, des thons rouges, marqués près de Cadix par Rodriguez-Roda et Hamre, ont permis de démontrer qu'il y a effectivement une pénétration en Méditerranée. En effet, si certains de ces thons se sont dirigés vers l'ouest et le nord, d'autres ont pris la direction de Gibraltar et l'un d'eux a été recapturé environ trois mois plus tard dans le golfe du Lion.

Avec les germons, le problème semble différent : d'une part ils sont pêchés en abondance dans l'Atlantique, d'autre part leur présence est fréquente dans le golfe de Gênes, en Mer tyrrhénienne, en Méditerranée orientale et on les trouve dans le golfe du Lion, mais jamais ils n'ont été signalés des côtes d'Espagne, d'Algérie ou du Maroc méditerranéen, ce qui permet de se demander s'il ne s'agit pas de deux populations différentes.

Pour l'étude des migrations, d'une manière générale, les biologistes considèrent le marquage comme la méthode de choix, en dépit des difficultés qu'elle présente parfois. Malheureusement, les reprises sont souvent rares et si le retour d'une marque peut confirmer une hypothèse, l'absence de toute recapture ne saurait l'infirmer.

Etant donné ces conditions, les recherches sérologiques et immunologiques semblent devoir apporter une contribution intéressante à l'étude de la biologie du germon et du thon rouge. C'est la raison qui nous les a fait entreprendre.

## MATÉRIEL ETUDIÉ

## TECHNIQUES DE PRÉLÈVEMENT ET DE CONSERVATION DU SANG

Le présent travail comprendra deux parties :

***Recherche des groupes sanguins,***

***Etude électrophorétique et immunologique des protéines sériques.***

Mais avant de les aborder, il convient de donner quelques précisions sur le nombre et l'origine des poissons de chaque espèce que nous avons étudiés, ainsi que sur les techniques utilisées pour prélever et conserver leur sang.

**1° Matériel étudié.**

Il provient donc de deux mers différentes : l'Atlantique et la Méditerranée.

En Atlantique les prélèvements sur les thons ont été faits à bord de la « Thalassa », navire océanographique de l'Institut scientifique et technique des Pêches maritimes, du 29 mai au 19 juin 1961, à l'occasion d'une campagne effectuée par ce bateau au large des côtes portugaises pour l'étude de la biologie du germon. Au total ont été capturés et étudiés 110 germons (tabl. 1 ) et 3 thons rouges ; ces derniers ont été pêchés au nord des Berlingues et à l'entrée de la fosse de Nazarée.

En Méditerranée nos prélèvements ont été faits sur 90 germons ( tabl. 2 ) pêchés à bord du « Lutin » dans la région de Nice du 8 au 21 septembre et sur 70 thons rouges, dans le port de Sète, entre le 28 septembre et le 6 octobre 1961.

**2° Technique de prélèvement du sang.**

Pour la recherche des groupes sanguins chez les animaux terrestres on doit opérer sur du sang frais. A plus forte raison lorsque la recherche concerne des poissons, cette condition doit être tenue comme absolument nécessaire. En effet, la mort de ces animaux survient rapidement dans l'air, entraînant des modifications capables de rendre le matériel sanguin inutilisable par la suite pour les analyses sérologiques.

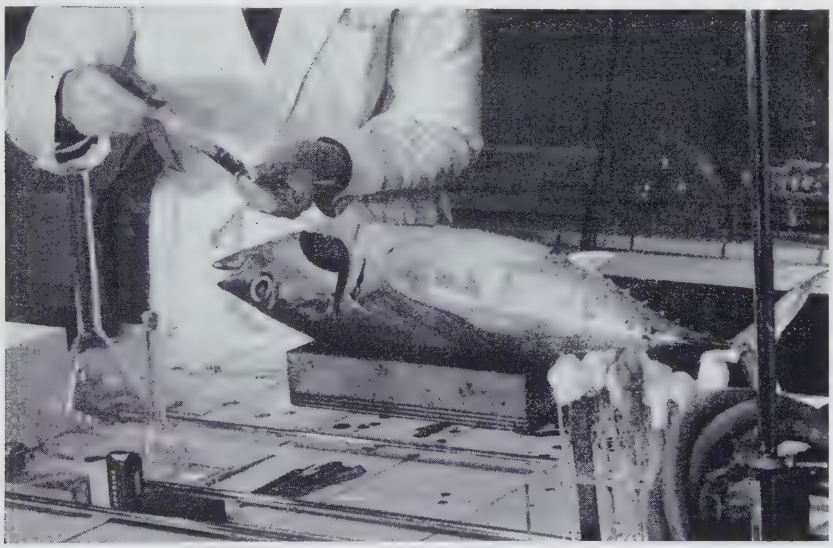


FIG. 1. — *Technique de prélèvement du sang sur un germon par la voie du sinus veineux, à l'aide d'une seringue.*

Pour cette raison, autant que possible nos prélèvements ont été effectués sur les lieux de pêche, aussitôt après la capture, parfois sur des thons encore vivants.

Mais cependant, en cas de nécessité, il est possible par l'emploi du froid de différer le prélèvement de quelques heures. En effet, par ce moyen la coagulation et le passage des bactéries de l'intestin dans le sang après la mort, se trouvent sensiblement retardés.

Aussi, comme à Sète il ne nous a pas été possible d'opérer sur les lieux de capture, durant la période indiquée les prélèvements ont été effectués dans ce port sur des thons pris parmi ceux apportés à quai dans le plus bref délai (5 ou 6 heures au plus après la capture) par des bateaux possédant un dispositif de réfrigération.

Pour prendre le sang, deux techniques différentes ont été utilisées.

*Prélèvement par ponction dans le sinus veineux.* Dans ce cas, la pointe de la pipette, ou l'aiguille de la seringue, est enfoncée au-dessous des branchies dans le sinus veineux à travers la paroi postérieure de la cavité branchiale (fig. 1 ). Pour être dans les conditions voulues de stérilité, il est préférable d'enlever une partie de l'opercule et d'écarter les branchies, puis de bien nettoyer et stériliser les parois de la cavité branchiale avec un morceau de coton alcoolisé. Malgré ces précautions, le prélèvement par cette voie semble entraîner une contamination bactérienne.

*Prélèvement par ponction cardiaque.* Pour éviter l'inconvénient précité nous avons préféré opérer selon cette seconde méthode dont voici la description. Le poisson ayant été calé sur le dos dans un support convenable préparé à cet effet, la première opération consiste à enlever les mucosités de la partie pectorale avec un bistouri, puis à stériliser cette partie au moyen d'un coton alcoolisé. Une perforation est effectuée ensuite dans la chair du poisson à une distance de 4 à 5 cm en avant de la base des nageoires ventrales. L'accès ainsi pratiqué permet de faire pénétrer dans le cœur, d'un coup sec, une pipette à boule préalablement stérilisée ( fig. 2 ).

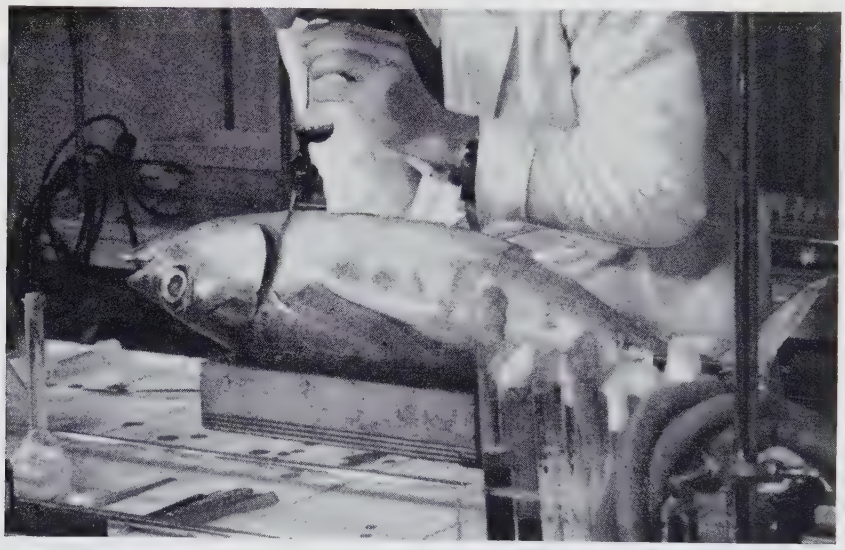


FIG. 2. — *Technique de prélèvement du sang sur un germon par ponction cardiaque à l'aide d'une pipette à boule.*

Les quantités de sang qu'il est possible de recueillir ainsi sont de l'ordre de 50 à 100 ml pour des poissons de 6 kg environ et d'une longueur de 70 cm .

Les tableaux 1 et 2 indiquent également pour chaque poisson le mode de prélèvement du sang.

**3° Préparation et conservation des échantillons.**

Le sang prélevé sur chaque poisson est divisé en deux parties inégales. La première, la moins importante, est additionnée de citrate de soude à 10 p. 100 dans la proportion de neuf parties de sang pour une partie de solution de citrate ; elle est destinée à la recherche des antigènes erythrocytaires.

La seconde constituée par la majorité du sang prélevé, est placée dans des tubes à essais en vue de la centrifugation ultérieure pour la séparation du sérum ; elle est destinée à la recherche des isoagglutinines.

Tout le sang prélevé est mis au réfrigérateur à une température comprise entre + 1° et + 3° C .

TABL. 1. — *Germons,* Germo alalunga (GMELIN) *capturés en Atlantique en juin* 1961 *: caractères morphologiques et biologiques, lieux de pêche et mode de prélèvement du sang ; tous ces germons étaient sexuellement immatures.*

| N° | Sexe | LT (cm) | Poids (kg) | Date de pêche | Lieu de pêche | Prélèvement du sang | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | | Voie | Moyen |
| 1 | ? | 66 | 5 | 4 | 40° 59′ N - 10° 59′ O | Sinus | Pipette |
| 2 | » | 69,5 | 6 | » | » | » | à |
| 3 | » | 68,5 | 5,40 | 5 | 40° 30′ N - 12° 12′ O | » | boule |
| 4 | » | 64,5 | 5 | » | » | » | » |
| 5 | » | 69 | 5,70 | » | » | » | » |
| 6 | » | 68,5 | 5,50 | » | 39° 28′ 5 N - 12° 53′ O | » | » |
| 7 | » | 69 | 5,70 | » | » | » | » |
| 8 | » | 55 | 2,70 | » | 39° 28′ 5 N - 12° 57′ O | » | » |
| 9 | » | 52,5 | 2,50 | » | » | » | » |
| 10 | » | 54 | 2,50 | 6 | 39° 25′ N - 10° 36′ O | » | » |
| 11 | » | 53 | 2,60 | » | 40° 30′ N - 10° 59′ O | » | » |
| 12 | » | 71 | 6,20 | » | 40° 24′ N - 10° 59′ O | » | » |
| 13 | » | 66 | 5,20 | » | 41° 21′ N - 11° 00′ O | » | » |
| 14 | » | 68 | 5,50 | » | » | » | » |
| 15 | » | 69 | 5,20 | 8 | 41° 30′ N - 10° 30′ O | » | » |
| 16 | » | 70 | 5,80 | 10 | 40° 22′ 5 N - 11° 00′ O | » | » |
| 17 | » | 64,5 | 5,10 | » | » | » | » |
| 18 | » | 63 | 4,40 | » | » | » | » |
| 19 | » | 71 | 6,20 | » | » | » | » |
| 20 | » | 68 | 5,30 | » | » | » | » |
| 21 | » | 53 | 2,70 | » | » | » | » |
| 22 | » | 67 | 5,10 | » | » | » | » |
| 23 | » | 67,5 | 5,70 | » | » | » | » |
| 24 | » | 72 | 6,10 | » | » | » | » |
| 25 | » | 66 | 5,70 | » | » | » | » |
| 26 | » | 69 | 5,80 | » | » | » | » |
| 27 | ♂ | 72 | 6,40 | » | » | » | » |
| 28 | ? | 68 | 5,40 | » | » | » | » |
| 29 | » | 72 | 6,30 | » | 40° 31′ 8 N - 11° 01′ 5 O | » | » |
| 30 | ♂ | 67 | 5,10 | » | » | » | » |
| 31 | ♀ | 71 | 6,20 | » | » | » | » |
| 32 | ? | 67 | 5,10 | » | » | » | » |
| 33 | » | 71 | 6,40 | » | » | » | » |
| 34 | ♂ | 69 | 5,50 | » | » | » | » |
| 35 | ♂ | 64 | 4,60 | » | » | » | » |
| 36 | ? | 69 | 5,20 | » | » | » | » |
| 37 | » | 66 | 5,10 | » | » | » | » |
| 38 | » | 67 | 5,20 | » | » | Cœur | » |
| 39 | » | 64 | 5,50 | » | » | » | » |
| 40 | » | 68 | 5,50 | » | » | » | » |
| 41 | » | 70 | 5,90 | » | » | » | » |
| 42 | ♂ | 62 | 4,10 | » | » | » | » |
| 43 | ♂ | 63 | 4,20 | » | » | » | » |
| 44 | ♂ | 73 | 6,70 | » | » | » | » |
| 45 | ♀ | 65 | 4,90 | » | » | » | » |
| 46 | ? | 70 | 5,60 | » | » | » | » |
| 47 | » | 62 | 4,10 | » | » | » | » |
| 48 | » | 71 | 6,60 | 11 | 40° 35′ N - 11° 02′ 5 O | » | » |
| 49 | » | 72 | 6,10 | » | » | » | » |
| 50 | ♀ | 70 | 5,70 | » | » | » | » |
| 51 | ? | 68 | 5,30 | » | » | » | » |
| 52 | » | 68 | 5,30 | » | » | » | » |
| 53 | » | 69 | 5,50 | » | » | » | » |
| 54 | » | 69 | 5,50 | » | » | » | » |
| 55 | » | 54,5 | 2,80 | » | » | » | » |

TABLEAU 1 (*Suite*)

| N° | Sexe | LT (cm) | Poids (kg) | Date de pêche | Lieu de pêche | Prélèvement du sang | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | | Voie | Moyen |
| 56 | ♂ | 71 | 6,20 | 11 | 40° 37′ 5 N - 11° 05′ 2 O | Cœur | Pipette |
| 57 | ♂ | 73 | 6,10 | » | » » | » | à |
| 58 | » | 70 | 5,60 | » | » » | » | boule |
| 59 | » | 67 | 5,30 | » | » » | » | » |
| 60 | » | 67 | 5,30 | » | 40° 46′ N - 10° 48′ O | » | » |
| 61 | » | 65 | 5,30 | » | » » | » | » |
| 62 | » | 68 | 5,90 | » | » » | » | » |
| 63 | » | 67 | 5,50 | » | » » | » | » |
| 64 | » | 71 | 6,30 | 12 | 40° 44′ N - 10° 59′ O | » | » |
| 65 | » | 71 | 6,10 | » | 40° 48′ N - 10° 59′ O | » | » |
| 66 | » | 70 | 6,10 | » | » » | » | » |
| 67 | » | 71 | 5,90 | » | » » | » | » |
| 68 | » | 71 | 6,00 | » | » » | » | » |
| 69 | » | 69 | 5,70 | » | » » | » | » |
| 70 | » | 71 | 6,20 | » | » » | » | » |
| 71 | » | 74 | 6,30 | » | » » | » | » |
| 72 | » | 66 | 4,70 | » | » » | » | » |
| 73 | » | 69 | 5,60 | » | » » | » | » |
| 74 | » | 72 | 6,40 | » | » » | » | » |
| 75 | » | 72 | 6,40 | » | » » | » | » |
| 76 | » | 67 | 5,20 | » | » » | » | » |
| 77 | » | 68 | 5,50 | » | » » | » | » |
| 78 | » | 69 | 5,70 | » | » » | » | » |
| 79 | » | 72 | 6,20 | » | » » | » | » |
| 80 | » | 70 | 5,80 | » | » » | » | » |
| 81 | » | 70 | 6,00 | » | » » | » | » |
| 82 | » | 70 | 5,80 | » | » » | » | » |
| 83 | » | 65 | 4,50 | » | » » | » | » |
| 84 | » | 72 | 5,80 | » | » » | » | » |
| 85 | » | 74 | 6,60 | » | » » | » | » |
| 86 | » | 70 | 5,80 | » | » » | » | » |
| 87 | » | 70 | 5,60 | » | » » | » | » |
| 88 | » | 66 | 4,60 | » | » » | » | » |
| 89 | » | 72 | 6,50 | » | » » | » | » |
| 90 | » | 64 | 4,10 | » | » » | » | » |
| 91 | » | 72 | 6,40 | » | 40° 48′ N - 11° 00′ O | » | » |
| 92 | » | 72 | 6,20 | » | » » | » | » |
| 93 | » | 56 | 2,80 | » | 40° 50′ N - 11° 02′ O | » | » |
| 94 | » | 56 | 2,90 | » | » » | » | » |
| 95 | » | 54 | 2,60 | » | » » | » | » |
| 96 | » | 69 | 5,20 | » | » » | » | » |
| 97 | » | 66 | 4,70 | » | » » | » | » |
| 98 | » | 62 | 4,20 | » | » » | » | Seringue |
| 99 | » | 62 | 3,60 | » | » » | » | » |
| 100 | » | 53 | 2,50 | » | » » | » | » |
| 101 | » | 64 | 4,90 | » | » » | » | » |
| 102 | » | 66 | 5,00 | » | 40° 56′ N - 11° 06′ O | » | » |
| 103 | » | 71 | 6,00 | » | » » | » | » |
| 104 | » | 69 | 5,60 | » | » » | » | » |
| 105 | » | 67 | 5,00 | » | » » | » | » |
| 106 | » | 54 | 2,70 | » | 40° 57′ N - 11° 03′ O | » | » |
| 107 | » | 52 | 2,40 | » | » » | » | » |
| 108 | » | 69 | 5,40 | » | » » | » | » |
| 109 | » | 68 | 5,10 | » | 42° 24′ 3 N - 10° 12′ 2 O | » | » |
| 110 | » | 75 | 7,10 | » | » » | » | » |

TABL. 2. — *Germons,* Germo alalunga (GMELIN) *capturés en Méditerranée en septembre* 1961 *: caractères morphologiques et biologiques, lieux de pêche et mode de prélèvement du sang ; tous ces germons étaient au stade sexuel VII.*

| N° | Sexe | LT (cm) | Poids (kg) | Date de pêche | Lieu de pêche | Prélèvement du sang | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | | Voie | Moyen |
| 1 | ♀ | 62 | 3,65 | 10 | 43° 37′ 7 N - 7° 20′ 5 E | Cœur | Pipette |
| 2 | ♀ | 62 | 3,60 | » | » » | » | à |
| 3 | ♀ | 65 | 4,35 | » | 43° 28′ N - 7° 20′ E | » | boule |
| 4 | ♂ | 64 | 4,25 | » | 43° 28′ N - 7° 21′ E | » | » |
| 5 | ♀ | 62 | 3,25 | » | » » | » | » |
| 6 | ♀ | 63 | 3,90 | » | 43° 34′ 3 N - 7° 16′ E | » | » |
| 7 | ♀ | 63 | 3,85 | » | 43° 36′ N - 7° 23′ E | » | » |
| 8 | ♂ | 64 | 4,30 | » | » » | » | » |
| 9 | ♂ | 65 | 4,50 | » | » » | » | » |
| 10 | ♂ | 63 | 3,90 | » | » » | » | » |
| 11 | ♂ | 64 | 4,20 | » | » » | » | » |
| 12 | ♀ | 62 | 3,60 | » | » » | » | » |
| 13 | ♀ | 62 | 3,60 | » | » » | » | » |
| 14 | ♀ | 62 | 3,65 | » | » » | » | » |
| 15 | ♂ | 63 | 3,85 | » | » » | » | » |
| 16 | ♂ | 64 | 4,25 | » | 43° 36′ N - 7° 24′ 5 E | » | » |
| 17 | ♀ | 62 | 3,60 | » | » » | » | » |
| 18 | ♀ | 64 | 4,30 | » | » » | » | » |
| 19 | ♂ | 64 | 4,30 | » | » » | » | » |
| 20 | ♀ | 62 | 3,65 | » | » » | » | » |
| 21 | ♀ | 63 | 3,85 | » | » » | » | » |
| 22 | ♀ | 65 | 4,45 | » | » » | » | » |
| 23 | ♀ | 64 | 4,30 | » | » » | » | » |
| 24 | ♂ | 66 | 4,60 | 13 | 43° 31′ 6 N - 7° 18′ 5 E | » | » |
| 25 | ♀ | 65 | 4,40 | » | 43° 25′ N - 7° 11′ 3 E | » | » |
| 26 | ♂ | 72 | 6,05 | » | » » | Sinus | » |
| 27 | ♀ | 64 | 4,30 | » | » » | » | » |
| 28 | ♀ | 70 | 5,00 | » | » » | » | » |
| 29 | ♀ | 70 | 5,00 | » | » » | Cœur | » |
| 30 | ♀ | 70 | 5,00 | » | » » | » | » |
| 31 | ♂ | 72 | 6,10 | » | » » | » | » |
| 32 | ♀ | 73 | 6,45 | » | » » | » | » |
| 33 | ♀ | 65 | 4,45 | » | » » | » | » |
| 34 | ♂ | 70 | 5,00 | » | 43° 25′ N - 7° 13′ E | » | » |
| 35 | ♂ | 71 | 5,25 | » | » » | » | » |
| 36 | ♀ | 65 | 4,40 | » | » » | » | » |
| 37 | ♂ | 73 | 6,70 | » | » » | » | » |
| 38 | ♂ | 73 | 6,75 | » | » » | » | » |
| 39 | ♀ | 75 | 6,85 | » | » » | » | » |
| 40 | ♂ | 70 | 5,50 | » | » » | » | » |
| 41 | ♂ | 69 | 4,90 | » | » » | » | » |
| 42 | ♂ | 72 | 6,25 | » | » » | » | » |
| 43 | ♂ | 66 | 4,60 | 16 | 43° 39′ N - 7° 16′ E | Sinus | Seringue |
| 44 | ♀ | 75 | 6,80 | » | » » | » | » |
| 45 | ♀ | 65 | 4,30 | » | » » | » | » |
| 46 | ♂ | 65 | 4,30 | » | » » | » | » |
| 47 | ♀ | 70 | 5,00 | » | » » | Cœur | Pipette |
| 48 | ♀ | 73 | 6,95 | » | » » | » | à |
| 49 | ♀ | 69 | 4,65 | » | » » | » | boule |
| 50 | ♂ | 70 | 5,00 | » | » » | » | » |
| 51 | ♂ | 65 | 4,40 | » | » » | » | » |
| 52 | ♂ | 70 | 4,95 | » | » » | » | » |
| 53 | ♂ | 77 | 6,35 | » | » » | » | » |
| 54 | ♂ | 70 | 5,00 | » | » » | » | » |
| 55 | ♂ | 70 | 5,00 | » | » » | » | » |
| 56 | ♂ | 72 | 6,05 | » | » » | » | » |

TABLEAU 2 (*Suite*)

| N° | Sexe | LT (cm) | Poids (kg) | Date de pêche | Lieu de pêche | Prèlevement du sang | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | | Voie | Moyen |
| 57 | ♂ | 78 | 6,70 | 16 | 43° 39′ N - 7° 16′ E | Cœur | Seringue |
| 58 | ♀ | 70 | 5,05 | » | » » | » | » |
| 59 | ♀ | 62 | 3,60 | » | » » | » | » |
| 60 | ♂ | 64 | 4,25 | » | » » | » | » |
| 61 | ♀ | 73 | 6,15 | » | » » | » | » |
| 62 | ♀ | 72 | 5,60 | » | » » | » | » |
| 63 | ♀ | 65 | 4,50 | » | » » | » | » |
| 64 | ♀ | 72 | 6,00 | » | » » | » | » |
| 65 | ♂ | 65 | 4,65 | » | » » | » | » |
| 66 | ♂ | 75 | 7,00 | » | » » | » | » |
| 67 | ♀ | 75 | 6,90 | » | 43° 34′ 5 N - 7° 10′ E | » | Pipette |
| 68 | ♀ | 74 | 6,75 | » | » » | » | à |
| 69 | ♀ | 63 | 3,90 | » | » » | » | boule |
| 70 | ♀ | 70 | 5,10 | » | » » | » | » |
| 71 | ♀ | 73 | 5,80 | » | » » | » | » |
| 72 | ♀ | 66 | 4,55 | » | » » | » | » |
| 73 | ♂ | 76 | 6,95 | » | » » | » | » |
| 74 | ♀ | 72 | 6,25 | » | » » | » | » |
| 75 | ♀ | 70 | 5,15 | » | » » | » | » |
| 76 | ♂ | 70 | 5,05 | » | » » | » | » |
| 77 | ♂ | 74 | 6,10 | » | » » | » | » |
| 78 | ♀ | 68 | 5,00 | » | » » | » | » |
| 79 | ♀ | 69 | 4,95 | » | » » | » | » |
| 80 | ♂ | 72 | 5,85 | » | » » | » | » |
| 81 | ♀ | 65 | 4,35 | » | » » | » | » |
| 82 | ♀ | 72 | 5,45 | » | » » | » | » |
| 83 | ♂ | 73 | 5,95 | » | » » | » | » |
| 84 | ♂ | 62 | 4,00 | » | » » | » | » |
| 85 | ♀ | 68 | 4,60 | » | » » | » | » |
| 86 | ♀ | 66 | 4,55 | » | » » | » | » |
| 87 | ♂ | 66 | 4,35 | » | » » | » | » |
| 88 | ♂ | 71 | 5,75 | » | » » | » | » |
| 89 | ♂ | 75 | 6,85 | » | » » | » | » |
| 90 | ♀ | 76 | 7,00 | » | » » | » | » |

## PREMIERE PARTIE

# RECHERCHE DES GROUPES SANGUINS

Le groupe sanguin de l'Homme et de plusieurs espèces animales est recherché depuis longtemps essentiellement à l'aide de la réaction d'agglutination. Chez certains animaux tels que les bovins, les groupes sanguins peuvent être déterminés par la réaction d'hémolyse. Mais dans tous les cas, c'est la révélation d'anticorps qui permet cette recherche. Elle se fait en général selon trois procédés principaux :

1° la recherche d'isoanticorps sériques (par réaction croisée entre globules rouges et sérums d'individus de même espèce);

2° la recherche d'hétéroanticorps ou d'hétéroimmunanticorps (par réaction du sérum normal ou de l'immunsérum d'une espèce animale sur les globules rouges d'une autre espèce animale);

3° la recherche d'isoimmunanticorps (par l'immunisation entre eux de différents individus de même espèce).

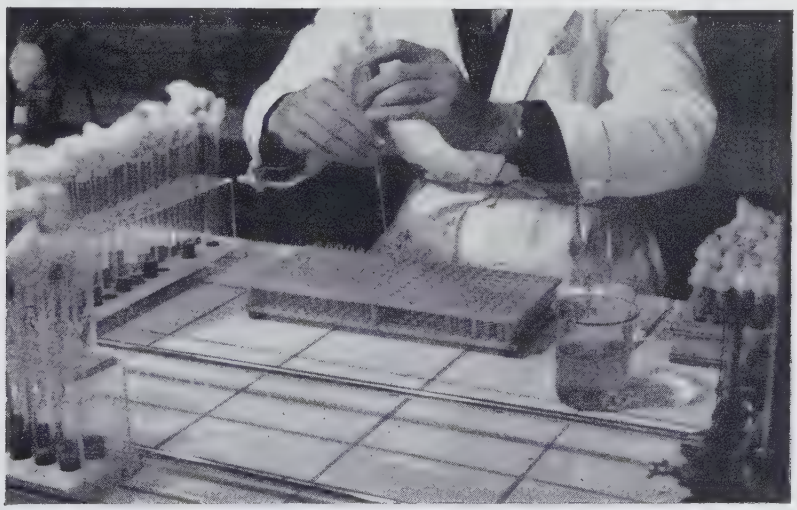


FIG. 3. — *Réaction d'agglutination en tube à hémolyse.*

**Méthode de recherche des groupes sanguins du thon.**

Nous avons utilisé la première de ces méthodes. En principe, elle doit toujours être appliquée avant toute autre car elle ne met en jeu qu'une seule espèce. Par ailleurs elle est à la fois la plus directe et la plus rigoureuse, sinon la plus facile. Enfin la quantité de sang qu'elle exige se trouve facilement chez les thons.

Précisons que la deuxième méthode était difficilement réalisable dans nos conditions de travail. Quant à la troisième elle semble pratiquement impossible à utiliser avec des poissons migrateurs.

Pour la recherche des groupes sanguins par isoagglutination, on utilise donc le sérum d'un poisson et les globules rouges provenant du sang citraté d'un autre poisson. Les globules rouges préalablement lavés par deux fois dans une solution de NaCl à 1,5 p. 100 (1) sont mis en présence des sérums : soit dans des tubes à hémolyse à raison de 0,1 ml de sérum pour 0,05 ml de suspension de globules rouges à 2 p. 100 (fig. 3), soit sur des plaques de verre à raison de 0,2 ml de sérum pour 0,05 ml de globules rouges (fig. 4).

La technique de réaction d'agglutination sur plaque de verre s'est révélée la plus pratique.

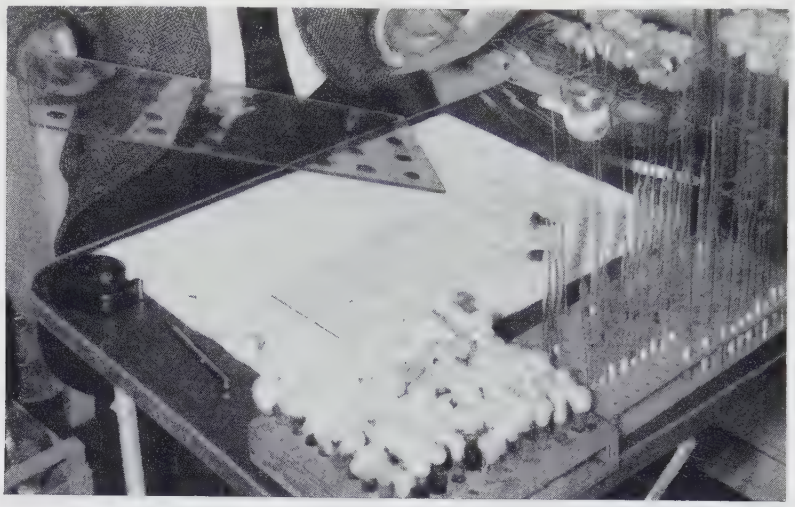


FIG. 4. — *Réaction d'agglutination sur plaque de verre.*

**Résultats.**

Après l'exposé des méthodes, nous allons donner successivement les résultats obtenus sur les groupes sanguins des :

1° germons de l'Atlantique,

2° germons de la Méditerranée,

3° thons rouges de l'Atlantique et de la Méditerranée.

**1° *Germons de l'Atlantique.***

Les groupes sanguins des germons de l'Atlantique sont étudiés sur les lieux de pêche, d'après 2 200 réactions croisées faites selon la méthode d'agglutination appliquée au sang de 110 germons (tabl. 1). Nous avons décelé l'existence de groupes sanguins que nous nommons : I, II, I-II, 0. Cela confirme les résultats obtenus par SUZUKI (1958) avec les germons du Pacifique et de l'Océan indien. Ces appellations sont comparables à celles, A, B, AB et 0, données aux groupes trouvés chez l'Homme.

Le tableau 3 montre les résultats de notre première série de réactions croisées entre les sérums et les globules rouges de 14 germons (individus n° 1 à 14).

(1) Nous avons essayé la résistance des globules rouges des thons aux différentes dilutions NaCl entre 0,8 p. 100 et 2 p. 100 ; nous avons observé que celle à 1,5 p. 100 est isotonique pour les globules rouges donc convenable pour leur lavage.

A la lecture nous pouvons faire certaines constatations.

1) Sur les globules rouges des individus 1 et 6 d'une part et 2, 3, 5, 7 d'autre part, se trouvent deux antigènes différents et dans leurs sérums existent deux anticorps (agglutinines) différents l'un de l'autre. Donc nous désignerons arbitrairement les uns comme groupe I et les autres comme groupe II. Les sangs des germons 1 et 6 avaient une propriété identique et sont choisis comme groupe I; ceux des individus 2, 3, 5, 7 sont choisis comme groupe II.

2) Chez les individus 8, 9, 10, 11 et 13, les globules rouges sont agglutinés par les sérums des autres individus, mais leurs sérums n'ont pas réagi avec les globules rouges des autres. Cela implique que sur les globules rouges de ces poissons existe l'antigène I-II et que le sérum est exempt d'anticorps, propriété comparable à celle existant chez le groupe AB de l'Homme.

| Sérums \ Globules rouges | | I | II | II | 0 | II | I | II | I-II | I-II | I-II | I-II | 0 | I-II | 0 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 |
| I | 1 | — | + | + | — | + | — | + | + | + | + | + | — | + | — |
| II | 2 | + | — | — | — | — | + | — | + | + | + | + | — | + | — |
| II | 3 | + | — | — | — | — | + | — | + | + | + | + | — | + | — |
| 0 | 4 | + | + | + | — | + | + | + | + | + | + | + | — | + | — |
| II | 5 | + | — | — | — | — | + | — | + | + | + | + | — | + | — |
| I | 6 | — | + | + | — | + | — | + | + | + | + | + | — | + | — |
| II | 7 | + | — | — | — | — | + | — | + | + | + | + | — | + | — |
| I-II | 8 | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| I-II | 9 | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| I-II | 10 | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| I-II | 11 | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| 0 | 12 | + | + | + | — | + | + | + | + | + | + | + | — | + | — |
| I-II | 13 | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| 0 | 14 | + | + | + | — | + | + | + | + | + | + | + | — | + | — |

TABL. 3. — *Résultat de notre première série de réactions croisées entre les sérums et les globules rouges de* 14 *germons pêchés entre le* 4 *et le* 6 *juin* 1961 *dans l'Atlantique.* (+ agglutination ; — pas d'agglutination).

3) Les sérums des individus 4, 12, 14 ont agglutiné les globules rouges des autres germons, mais leurs globules rouges ne sont pas agglutinés par les sérums de ces derniers. Cela prouve qu'il n'existe pas d'antigène sur les globules rouges des individus 4, 12, 14, mais que leurs sérums renferment des anticorps (anti-I et anti-II) spéciaux au groupe 0.

A l'aide du tableau croisé nous avons poursuivi les essais de la même manière sur le sang des 96 autres germons. Ainsi, la totalité des germons capturés durant la campagne a été étudiée et les résultats obtenus sont indiqués dans le tableau 4.

Les sérums du groupe I et du groupe II qui, parmi ceux des mêmes groupes, avaient le pouvoir agglutinant le plus fort, ont été conservés à — 20° C pour servir de sérum de référence.

### 2° *Germons de la Méditerranée.*

La fréquence des groupes sanguins chez les germons de l'Atlantique nous a amené à étudier également les groupes sanguins des germons de la Méditerranée, et d'essayer de préciser s'il existe

une différence de la fréquence des groupes sanguins entre les germons de ces deux mers. Ces essais ont été faits sur 90 germons capturés dans la région de Nice (tabl. 2 ).

| Date de pêche | Lieu de pêche | Nombre de germons pêchés | Groupes sanguins | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | I | II | I-II | 0 |
| 4 | 40° 59′ N - 10° 59′ O | 2 | 1 | 1 | | |
| 5 | 40° 30′ N - 12° 12′ O | 3 | | 2 | | 1 |
| » | 39° 28′ 5 N - 12° 53′ O | 2 | 1 | 1 | | |
| » | 39° 28′ 5 N - 12° 57′ O | 2 | | | 2 | |
| 6 | 39° 25′ N - 10° 36′ O | 1 | | | 1 | |
| » | 40° 30′ N - 10° 59′ O | 1 | | | 1 | |
| » | 40° 24′ N - 10° 59′ O | 1 | | | | 1 |
| » | 41° 21′ N - 11° 00′ O | 2 | | | 1 | 1 |
| 8 | 41° 30′ N - 10° 30′ O | 1 | | | 1 | |
| 10 | 40° 22′ 5 N - 11° 00′ O | 13 | 3 | | 7 | 3 |
| » | 40° 31′ 5 N - 11° 01′ O | 19 | 5 | 3 | 7 | 4 |
| 11 | 40° 35′ N - 11° 02′ 5 O | 8 | 3 | 1 | 2 | 2 |
| » | 40° 37′ 5 N - 11° 05′ 2 O | 4 | | 1 | 3 | |
| » | 40° 46′ N - 10° 48′ O | 4 | | 1 | 1 | 2 |
| 12 | 40° 44′ N - 10° 59′ O | 1 | | | | 1 |
| » | 40° 48′ N - 10° 60′ O | 26 | 5 | 3 | 8 | 10 |
| » | 40° 48′ N - 11° 00′ O | 2 | 1 | | 1 | |
| » | 40° 50′ N - 11° 02′ O | 9 | 1 | 1 | 3 | 4 |
| » | 40° 56′ N - 11° 06′ O | 4 | | | 3 | 1 |
| » | 40° 57′ N - 11° 03′ O | 3 | | 1 | 2 | |
| » | 42° 24′ N - 10° 12′ O | 2 | | | 2 | |
| | Total | 110 | 20 | 15 | 45 | 30 |

Tabl. 4. — *Répartition de* 110 *germons pêchés dans l'Atlantique en juin* 1961 *selon leur groupe sanguin.*

| Date de pêche | Lieu de pêche | Nombre de germons pêchés | Groupes sanguins | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | I | II | I-II | 0 |
| 10 | 43° 37′ 7 N - 7° 20′ 5 E | 2 | | | 2 | |
| » | 43° 28′ N - 7° 20′ E | 1 | | | 1 | |
| » | 43° 28′ N - 7° 21′ E | 2 | 1 | | 1 | |
| » | 43° 34′ 5 N - 7° 16′ E | 1 | | | | 1 |
| » | 43° 36′ N - 7° 23′ E | 9 | 3 | 1 | 5 | |
| » | 43° 36′ N - 7° 24′ 5 E | 8 | 1 | | 6 | 1 |
| 13 | 43° 31′ 6 N - 7° 18′ 5 E | 1 | | | 1 | |
| » | 43° 25′ N - 7° 11′ 3 E | 9 | 3 | 2 | 4 | |
| » | 43° 25′ N - 7° 13′ E | 9 | 5 | 1 | 3 | |
| 16 | 43° 39′ N - 7° 16′ E | 24 | 12 | | 11 | 1 |
| » | 43° 34′ 5 N - 7° 10′ E | 24 | 3 | | 18 | 3 |
| | Total | 90 | 28 | 4 | 52 | 6 |

Tabl. 5. — *Répartition de* 90 *germons pêchés en Méditerranée en septembre* 1961 *selon leur groupe sanguin.*

Avec les mêmes techniques qu'en Atlantique, 1 840 réactions croisées ont été effectuées. La fréquence des groupes sanguins est exprimée dans le tableau 5.

*Remarques.*

1) Les sérums des germons 40, 48, 71, 73, 74 et 77 de l'Atlantique et des germons 5, 11, 14, 19, 49 de la Méditerranée avaient un pouvoir agglutinant plus fort que celui des autres germons ( 1/2 jusqu'à 1/4 ).

2) Les sérums de 21 germons de l'Atlantique et 23 de la Méditerranée ont montré un pouvoir agglutinant plus ou moins faible, dont l'interprétation était assez délicate (quelquefois à l'aide d'un microscope).

3) Dans 14 cas en Atlantique et 8 cas en Méditerranée nous avons observé une autoagglutination ; nous avons laissé les sérums de ces poissons pendant 24 h à la température de + 4° C et grâce à une autre série d'essais, nous avons constaté encore 11 cas d'autoagglutination (le groupe sanguin de ces derniers poissons a été déterminé par les sérums d'autres germons dont le groupe était déjà connu).

***Résultats.***

La réaction d'agglutination nous a permis de déceler chez les germons l'existence de groupes sanguins que nous nommons I, II, I-II et 0, comparables aux groupes A, B, AB et 0 que l'on trouve chez l'Homme. Le tableau 6 donne le détail des résultats obtenus en Atlantique et en Méditerranée.

| Groupes | Atlantique | | Méditerranée | |
|---|---|---|---|---|
| | Nombre d'individus | p. 100 | Nombre d'individus | p. 100 |
| I | 20 | 18,2 | 28 | 31,2 |
| II | 15 | 13,6 | 4 | 4,4 |
| I-II | 45 | 40,9 | 52 | 57,7 |
| 0 | 30 | 27,3 | 6 | 6,7 |
| Total : | 110 | 100,0 | 90 | 100,0 |

Tabl. 6. — *Germons pêchés en Atlantique et en Méditerranée : répartition et pourcentage en fonction de leur groupe sanguin.*

Nous avons voulu savoir dans quelle mesure étaient significatives les différences observées pour chaque groupe dans les pourcentages correspondant aux deux mers. A cet effet nous avons comparé les différences $\left|\frac{a_A}{n_A} - \frac{a_M}{n_M}\right|$ à l'écart-type de la distribution d'échantillonnage de la différence des pourcentages $\sigma e = \sqrt{\frac{(a_A + a_M)\ (n_A - a_A + n_M - a_M)}{n_A\, n_M\, (n_A + n_M)}}$ où $n_A$ et $n_M$ représentent le nombre de germons étudiés respectivement en Atlantique et en Méditerranée, $a_A$ et $a_M$ la fréquence respective des individus d'un groupe sanguin donné dans chaque mer. Nous considérons que la différence $\left|\frac{a_A}{n_B} - \frac{a_M}{n_M}\right|$ est significative si elle est supérieure à 1,96 $\sigma e$ (seuil de signification

0,05) ; nous la considérons comme hautement significative si elle est supérieure à 2,58 σe (seuil de signification 0,01 ).

Groupe I : $\left|\frac{a_A}{n_A} - \frac{a_M}{n_M}\right| = 0{,}130$ $\quad \sigma e = 0{,}0607$ $\quad \begin{matrix} 1{,}96\ \sigma e = 0{,}118 \\ 2{,}58\ \sigma e = 0{,}157 \end{matrix}$

la différence est significative.

Groupe II : $\left|\frac{a_A}{n_A} - \frac{a_M}{n_M}\right| = 0{,}092$ $\quad \sigma e = 0{,}0417$ $\quad \begin{matrix} 1{,}96\ \sigma e = 0{,}082 \\ 2{,}58\ \sigma e = 0{,}108 \end{matrix}$

la différence est significative.

Groupe I-II : $\left|\frac{a_A}{n_A} - \frac{a_M}{n_M}\right| = 0{,}168$ $\quad \sigma e = 0{,}0710$ $\quad \begin{matrix} 1{,}96\ \sigma e = 0{,}139 \\ 2{,}58\ \sigma e = 0{,}183 \end{matrix}$

la différence est significative.

Groupe 0 : $\left|\frac{a_A}{n_A} - \frac{a_M}{n_M}\right| = 0{,}206$ $\quad \sigma e = 0{,}0546$ $\quad \begin{matrix} 1{,}96\ \sigma e = 0{,}107 \\ 2{,}58\ \sigma e = 0{,}141 \end{matrix}$

la différence est hautement significative.

En conclusion, on peut dire que ces recherches ont permis de déterminer l'existence, chez les germons de l'Atlantique et de la Méditerranée, d'antigènes érythrocytaires et d'isoagglutinines sériques réguliers.

Il existe en outre des différences très nettes entre les répartitions des différents groupes en Atlantique et en Méditerranée.

### 3° *Thons rouges de l'Atlantique et de la Méditerranée.*

Nous avons étudié les groupes sanguins des thons rouges avec les mêmes techniques que celles utilisées pour les germons. Environ 600 réactions croisées, à partir de 70 exemplaires de la Méditerranée et de 3 de l'Atlantique, nous ont montré que le pouvoir agglutinant du sérum de ces poissons était extrêmement faible. Quelques isoagglutinations ont été observées mais seulement au microscope ( 5 cas sur les 600 réactions croisées ). Ceci peut traduire l'existence d'isoagglutinines sériques et d'antigènes érythrocytaires chez cette espèce. Néanmoins ces réactions sont incapables de permettre l'établissement de groupes sanguins chez le thon rouge par la méthode d'isoagglutination avec réaction croisée, alors que cette méthode conduit à déterminer des groupes sanguins chez les germons atlantiques et méditerranéens.

SECONDE PARTIE

# ÉTUDE ÉLECTROPHORÉTIQUE ET IMMUNOLOGIQUE DES PROTÉINES SÉRIQUES

Cette seconde partie est consacrée aux caractères électrophorétiques et immunologiques des protéines sériques de germon et de thon rouge provenant de la Méditerranée et de l'Atlantique. Notre but est à la fois d'adapter à notre recherche les techniques connues, de mettre en évidence chez ces deux espèces les différents constituants protéiques du sérum et leurs caractères antigéniques, et d'essayer d'en tirer des applications pour l'étude de la biologie de ces thons.

Le matériel utilisé ne comprend que les échantillons de sang qui, placés dans les tubes à essais et laissés pendant 24 h au réfrigérateur à + 2° C, présentaient un surnageant de teinte claire. La grande fragilité des globules rouges de poisson fait qu'ils se lysent dans la plupart des échantillons de sérum lequel, alors, apparaît rouge après la coagulation. C'est ainsi que, pour un lot d'une dizaine de thons venant juste d'être capturés, les surnageants des sangs prélevés les premiers sont clairs (poissons vivants ou morts depuis quelques instants), ils sont troubles pour les sangs les derniers prélevés. Nous n'avons retenu en tout que 27 sérums sur les 273 prélèvements effectués.

Le surnageant, repris dans les tubes à essais à l'aide de pipettes stériles, a été centrifugé et le sérum, additionné de 0,01 p. 100 de merthiolate de sodium, réparti en ampoules stériles. Les ampoules scellées ont été conservées à + 1° - + 2° C jusqu'à leur utilisation.

Les 27 sérums retenus sont désignés par le numéro du poisson (tabl. 7 et 8 ) et se répartissent. selon l'espèce et la provenance, de la manière suivante :

8 sérums de germons atlantiques n° 1, 6, 38, 51, 52, 70, 75 et 109 ;
8 sérums de germons méditerranéens n° 9, 22, 29, 35, 47, 75, 76 et 79 ;
3 sérums de thons rouges atlantiques n° 1, 2 et 3 ;
8 sérums de thons rouges méditerranéens n° 1, 6, 15, 19, 25, 46, 57 et 58.

Cette seconde partie se divisera en trois chapitres :

*Etude du sérum par électrophorèse en gélose ;*

*Etude immunologique des protéines sériques ;*

*Analyse immunoélectrophorétique des fractions protéiques du sérum.*

## CHAPITRE I

## ÉTUDE DU SÉRUM PAR ÉLECTROPHORÈSE EN GÉLOSE

L'analyse électrophorétique des protéines sériques de quelques poissons (Téléostéens et Sélaciens) a été décrite par Deutsch et Goodloe ( 1945 ), Moore ( 1945 ), Deutsch et Mc. Shan ( 1949 ), Drilhon ( 1953, 1954 ), H. Irisawa et A.F. Irisawa ( 1954 ), Morris et Courtice ( 1955 ), Fine, Groulas, Saint-Paul et Tizza ( 1956 ), Drilhon, Fine, Uriel et Le Bourdelles ( 1956 ), Drilhon et Fine ( 1957 ), Engle *et al.* ( 1958 ), Drilhon, Fine et Daoulas ( 1958 ),

Fine et Drilhon ( 1958, 1959 et 1960 ), Magnin ( 1960 ), Fine et Drilhon ( 1961 ), Gordon Gunter, Sulya et Box ( 1961 ). Ces auteurs ont utilisé différentes méthodes électrophorétiques : électrophorèse sur papier, en gélose et en gel d'amidon.

Par *électrophorèse sur papier* les protéines des poissons se séparent moins aisément que celles de l'Homme ou de la plupart des mammifères (Drilhon, Fine, Uriel et Le Bourdelles, 1956 ).

L'*électrophorèse en gélose* des sérums de poissons présente sur la précédente de nombreux avantages ; la faible concentration de la gélose ( 1 p. 100 ) réalise un support presque liquide, les phénomènes d'évaporation sont pratiquement inexistants et la séparation des protéines sériques est plus facile. De plus, grâce à la transparence de la gélose, les fractions protéiques peuvent être plus facilement caractérisées par des réactions histochimiques. Le film obtenu après séchage permet l'enregistrement photométrique.

Le *gel d'amidon* possède un pouvoir de séparation plus élevé que celui du papier ou de la gélose. Cette technique permet de dénombrer de 9 à 14 fractions dans les sérums humains. On peut l'appliquer à l'étude des sérums de poissons, mais la comparaison des fractions obtenues chez ces derniers avec celles du sérum humain est difficile à établir ( Fine et Drilhon, 1958 ).

Par conséquent, de ces trois techniques nous avons utilisé l'électrophorèse en gélose suivant la méthode de P. Grabar et C.A. Williams ( 1953 et 1955 ) en employant le tampon véronal sodique à pH 8,2, 0,025 M et une tension de 5 V/cm environ.

**Principe de l'électrophorèse.**

La migration des molécules protéiques sous l'effet d'un champ électrique est rendue possible par le caractère amphotère des protéines.

Le degré de dissociation des fonctions acides ou basiques de la protéine ($R<^{NH_2}_{COOH}$) varie avec le pH. La protéine prend alors sa forme ionisée agissant comme un acide en milieu basique et comme une base en milieu acide. Pour une certaine valeur du pH la protéine ne se déplace pas et est électriquement neutre ; ce point est appelé point isoélectrique et correspond à la libération de quantités équivalentes d'ions $H^+$ et $OH^-$ par la protéine. On peut considérer qu'il existe une ionisation égale des deux fonctions acide et amine. Plus on s'élève au-dessus du point isoélectrique de la protéine, plus la fonction acide est ionisée, conférant à la molécule une charge de plus en plus négative ; elle se déplacera donc vers l'anode. Ainsi, après le passage du courant durant un certain intervalle de temps, les protéines seront séparées en différentes fractions caractérisées par leur mobilité électrophorétique.

**Appareil d'électrophorèse.**

Il existe différents appareils pour les études électrophorétiques sur papier, dont les plus connus sont celui de Valmet et Swensson, du C.N.R.S., de Grassmann, Hanning et Knedel, de Machebœuf et Rebeyrotte, de Flynn et Mayo, de Durrum ; de même il existe différents appareils pour l'électrophorèse en gélose parmi lesquels l'appareil des Etablissements Jouan (Paris) et celui des Etablissements Chaix (système R. Frentz, Institut de Biologie, Nancy).

L'appareil que nous avons utilisé pour l'analyse électrophorétique et immunoélectrophorétique des sérums des thons est celui du Service de Chimie microbienne de l'Institut Pasteur permettant l'électrophorèse en gélose.

Il est constitué par un générateur électrique, deux cuves en matière plastique pour la solution tampon, deux électrodes et un réservoir de tampon. Les cuves ont environ 50 cm de longueur et une contenance d'un litre. Les électrodes sont constituées par un fil de platine de 0,5 mm de diamètre, fixé sur un support en plastique occupant toute la longueur de la cuve.

Les électrodes étant impolarisables afin d'éviter les changements de pH dans les cuves, on assure un renouvellement continu du tampon pendant toute la durée de l'opération. L'appareil est muni d'un voltmètre et d'un ampèremètre permettant de contrôler la tension et l'intensité du courant (fig. 5 ).

FIG. 5. — *Appareil pour l'électrophorèse en gélose.* (D'après P. GRABAR et P. BURTIN, *Analyse immuno-électrophorétique,* Masson et Cie éditeurs).

**Electrophorèse en gélose.**

L'électrophorèse en gélose consiste à faire migrer au sein de ce milieu, sous l'effet d'une tension électrique, une protéine ou un mélange de protéines ; chacune d'elles atteint une position d'équilibre en un temps donné, suivant le tampon utilisé et l'intensité du courant électrique.

Les jonctions électriques sont assurées par du papier recouvert de gélose. Celui-ci peut être facilement plié et trempé dans les bacs à électrodes.

Le sérum est mélangé avec de la gélose et déposé dans un trou découpé à cet effet. Celui-ci est situé à une distance des pôles déterminée d'après la vitesse de migration des différentes protéines et en tenant compte de l'électroendosmose.

Cependant, les déplacements de diverses substances dans des gels de gélose ne sont pas les mêmes lorsqu'on se sert de géloses d'origines différentes et même parfois de lots différents de la même marque commerciale (GRABAR et BURTIN, 1960 ). Donc il est nécessaire d'utiliser toujours le même produit et d'effectuer des essais comparatifs de contrôle lorsqu'on s'adresse à un nouveau lot de gélose.

1° *Techniques annexes.*

*Purification de la gélose.* Les géloses vendues dans le commerce sont d'origines variées et à divers états de purification. Certaines préparations commerciales bien purifiées peuvent être utilisées telles quelles tandis que d'autres nécessitent une purification supplémentaire. La gélose que nous avons utilisée pour toutes nos analyses électrophorétiques, immunoélectrophorétiques et immunochimiques sur les sérums des thons est la gélose commerciale « Bacto Agar Difco » dont la purification et la préparation sont les suivantes.

On prépare une solution de gélose à environ 4 p. 100 (avec de l'eau de pH 7). La gélose est fondue au bain-marie bouillant, de préférence dans des boîtes de Roux. Celles-ci ont l'avantage de présenter une grande surface chauffante ce qui réduit le temps de chauffage ( 20 minutes environ). Lorsque la gélose est fondue, elle est coulée dans des cuvettes de porcelaine en une couche d'environ 10 mm d'épaisseur. Après gélification, on la coupe de manière à avoir des cubes de 1 $cm^3$ environ. Ceux-ci sont lavés dans 4 ou 5 fois leur volume d'eau neutre, changée matin et soir pendant 3 jours. Le lavage terminé, la gélose est égouttée sur Büchner puis sur papier filtre, de façon à éviter une trop grande dilution. La gélose est ensuite fondue à nouveau en boîte de Roux et au bain-marie bouillant puis laissée 30 minutes supplémentaires pour la stérilisation. Elle est gardée en chambre froide où elle se conserve plusieurs mois.

*Préparation de gélose tamponnée.* On détermine par un poids sec le pourcentage de la gélose préalablement purifiée. Pour cela on laisse 5 g du gel pendant 24 h dans une étuve à 80°-90° ; supposons que d'après cet essai le poids sec de 5 g de gélose soit égal à 0,25 g, la concentration de la gélose sera : ( 0,25 × 100 )/5 = 5 p. 100. Il faut ensuite amener la concentration de cette gélose à 2 p. 100 avec de l'eau distillée neutre. On chauffe la gélose dans un bain-marie et on y ajoute la quantité d'eau distillée bouillante nécessaire pour obtenir une concentration à 2 p. 100 de gélose. Puis on la dilue de moitié avec un tampon véronal sodique de pH 8,2 (1) et 0,05 M .

Si la solution n'est pas limpide, on la filtre rapidement sous vide (Büchner) sur deux feuilles de papier filtre superposées. On ajoute l'antiseptique (merthiolate de sodium à la concentration finale de 1/5 000 ) et on répartit la solution préparée dans des flacons, chacun d'entre eux contenant la quantité nécessaire pour une expérience.

*Préparation des plaques de gélose.* Pour la préparation des plaques de gélose, on utilise des plaques de verre sur lesquelles on coule une couche de gélose. Pour nos essais nous avons utilisé des plaques de 7 × 18, 13 × 18 cm et plus particulièrement de 18 × 24 cm .

Afin que la plaque de gélose adhère au verre, on recouvre ce dernier d'un enduit de gélose, c'est-à-dire on étale sur la face supérieure de la plaque de verre quelques gouttes de gélose à 2 p. 100, que l'on dessèche dans une étuve à 80° - 90° .

Pour pouvoir couler sur la plaque de verre une couche de gélose d'une épaisseur uniforme, on prépare une surface rigoureusement horizontale en versant une gélose quelconque fondue dans une cuvette de porcelaine fixée sur une paillasse.

Après solidification, on dispose sur cette surface horizontale la plaque de verre face enduite vers le haut. On dépose à chaque extrémité de la plaque un papier filtre (2) imbibé d'une solution tamponnée, d'une largeur de 4 cm et d'une longueur égale à la largeur de la plaque. Le papier empiète sur l'extrémité de la plaque de 1 cm et 3 cm restent en dehors. Ces bandes de papier serviront de connexions électriques après avoir été recouvertes, comme la plaque de verre, par la gélose.

Pour cette dernière opération on fait fondre la gélose tamponnée et on la verse dans la cuvette de façon à obtenir une couche de 4 mm d'épaisseur sur la plaque de verre. Après gélification,

---

(1) Composition de la solution tampon véronal : véronal sodique 47,6 g, eau distillée neutre 4,3 l, HCl 69 ml (pour amener le pH à 8,2).

(2) Papier chromatographique (Arches n° 304).

on découpe la gélose selon le contour de la plaque de verre et des morceaux de papier. Au ras des deux extrémités de la plaque de verre, on incise la gélose jusqu'au niveau du papier. On décolle doucement la plaque à l'aide d'une spatule introduite sous l'un de ses angles et on la dépose sur un support surélevé ; on plie les papiers à angle droit suivant la ligne d'incision et à l'aide d'une pipette on coule de la gélose tamponnée chaude le long de cette fente produite au ras du verre pour faire une « soudure » et assurer ainsi la continuité du milieu conducteur de l'électricité.

Ensuite, on découpe dans la gélose, à l'aide d'un emporte-pièce, la cavité destinée à recevoir l'antigène (sérum) mélangé volume à volume avec de la gélose à 2 p. 100. La forme et la contenance de ces réservoirs peuvent varier suivant les conditions de l'expérience et s'adapter aux caractéristiques des échantillons en étude. Pour l'électrophorèse simple de sérums de thons nous avons employé des réservoirs rectangulaires $R_{14}$ (de 14 mm de longueur et 4 mm de largeur) d'une contenance de 0,1 ml.

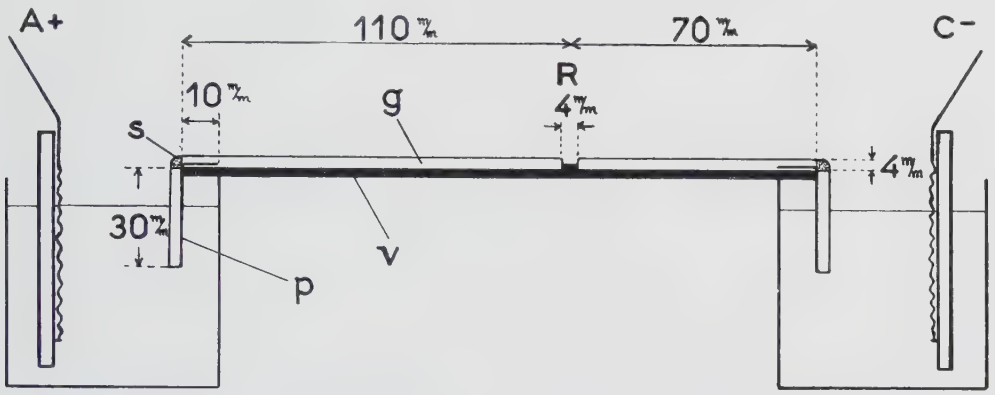



FIG. 6. — *Schéma en coupe de l'appareil pour l'électrophorèse en gélose.* $A^+$, $C^-$ anode et cathode plongeant dans les cuves contenant la solution tampon ; *v* plaque de verre ; *g* gélose ; *R* réservoir recevant la solution à analyser ; *p* papier-filtre recouvert de gélose ; *s* soudure à la pliure du papier.

Ayant à faire l'électrophorèse simple d'un certain nombre d'échantillons, nous avons utilisé des plaques de 18 × 24 cm et sur chacune d'elles nous avons pratiqué huit réservoirs, destinés à recevoir chacun le sérum d'un poisson, en laissant un centimètre d'écart entre eux. Ils ont été alignés parallèlement aux deux bords, anodique et cathodique, respectivement à 11 cm et 7 cm de ceux-ci (fig. 6).

| Espèce | Nombre | Protéines totales moyenne en mg/ml de sérum |
|---|---|---|
| *Germo alalunga* (germon) | 4 | 54,10 |
| *Thunnus thynnus* (thon rouge) | 3 | 61,25 |

Pour l'étude électrophorétique d'un sérum, on doit d'abord déterminer la teneur totale en protéines. Pour nos sérums de germons et de thons rouges, ces analyses ont été faites au laboratoire de chimie de l'Institut scientifique et technique des Pêches maritimes ; les résultats obtenus sont indiqués dans le tableau ci-contre.

Pour obtenir un protéinogramme aux fractions bien séparées et convenable pour la coloration, l'enregistrement photométrique et les calculs planimétriques, on doit utiliser 0,01 ml de sérum, et pour un lipoprotéinogramme 0,02 ml.

2° *Mode opératoire.*

A certains stades de l'électrophorèse, le mode opératoire diffère en ce qui concerne les protéines et les lipoprotéines.

*Dépôt du sérum sur la plaque.*

1) Protéines. On mélange dans un tube à hémolyse 0,1 ml de sérum de thon et 0,4 ml d'eau distillée neutre ; on met au bain-marie à 44° ; ensuite, à l'aide d'une pipette graduée, on ajoute 0,5 ml de gélose à 2 p. 100 fondue et ramenée à 44°. Après avoir mélangé avec la même pipette on met immédiatement 0,1 ml de la solution dans le réservoir pratiqué sur la plaque de gélose ( 0,1 ml de ce mélange contient 0,01 ml de sérum de thon ).

2) Lipoprotéines. Toutes les manipulations sont les mêmes que pour les protéines, mais cette fois 0,1 ml du mélange à déposer dans le réservoir du départ contient 0,02 ml du sérum ( 0,1 ml du sérum additionné de 0,15 ml d'eau distillée neutre sont mélangés à 0,25 ml de gélose à 2 p. 100 ).

*Electrophorèse.* Les plaques ainsi préparées sont disposées entre les deux cuves de telle façon que les papiers servant de jonction trempent également dans les cuves (fig. 5 et 6 ).

L'électrophorèse est conduite à la température du laboratoire en employant la solution tampon véronal-sodique à pH 8,2 et 0,05 M et un courant de 8 mA sous 100 V.

Pour les sérums de thons la durée de l'électrophorèse est de trois heures et demie sous une tension de 5 V/cm .

*Fixation.* Après l'électrophorèse, on arrête le courant, on enlève les connexions et les plaques sont immergées dans le fixateur pour immobiliser les différentes fractions séparées lors de la migration électrophorétique. Le fixateur doit être en rapport avec la nature des composants que l'on veut précipiter et, de plus, ne pas gêner les opérations ultérieures.

1) Protéines. Dans le cas du sérum du thon nous avons utilisé une solution d'acide acétique à 2 p. 100 . Elle est généralement employée pour le sérum de l'Homme et des animaux terrestres. Pour la fixation des protéines on plonge la plaque pendant trois heures au minimum dans la solution préparée (on ne risque rien en laissant jusqu'à 24 h).

2) Lipoprotéines. On immerge les plaques pendant deux heures dans une solution alcoolique d'acide acétique : 980 ml d'alcool éthylique à 50 p. 100 pour 20 ml d'acide acétique.

*Dessication.* Après fixation on recouvre toute la surface de la plaque, pour éviter la craquelure de la gélose, d'un papier à grain fin [1]. La plaque ainsi préparée est mise dans une étuve à 37° pendant 24 h environ. L'évaporation de l'eau et l'absorption des sels par le papier permettront d'obtenir un mince film transparent de gélose adhérent encore à la plaque de verre.

*Coloration des fractions protéiques et lipoprotéiques.*

1) Protéines. On colore ensuite les fractions protéiques d'après les méthodes utilisées en anatomopathologie et en histologie. Les produits les plus courants pour la coloration des protéines sériques sont : azocarmin B, amidoschwartz 10 B ou noir-amide, bleu de bromophénol et vert brillant.

Pour la coloration des protéines sériques séparées par l'électrophorèse en gélose, on utilise la solution d'amidoschwartz (Uriel et Grabar, 1956 ) : tampon acétate 900 ml [2], glycérine 100 ml , amidoschwartz 1 g [3].

On immerge la plaque pendant cinq ou six heures dans ce réactif, puis on lave pendant deux heures dans la solution suivante : acide acétique 20 ml , glycérine 150 ml , eau distillée neutre Q.S. p. 1 litre.

Après lavage, on doit sécher la plaque dans une étuve à 37° pendant 24 h .

2) Lipoprotéines. Pour la caractérisation des constituants lipoprotéiques, on utilise comme colorant une solution saturée de noir soudan dans l'alcool à 60 p. 100 (Uriel et Grabar, 1956 ) [4]

---

(1) Papier chromatographique (Arches n° 302).

(2) Tampon acétate : acide acétique N 500 ml, acétate de sodium M/10 500 ml .

(3) Amidoschwartz 10 B (noir-amide) : son appellation anglaise est Naphtalène Black 12 B 200, dont la formule brute est $C_{22}$ $H_{16}$ $O_4$ $N_7$ $S_2$ (PM = 572), utilisé pour la première fois pour l'électrophorèse par Grassmann *et al.* ( 1951 ).

(4) Mettre un gramme de noir soudan dans un litre d'alcool éthylique à 60 p. 100 ; laisser à l'étuve à 37° C pendant 24 h en agitant la solution de temps en temps, refroidir, filtrer et garder dans des flacons en verre coloré.

additionnée, juste avant l'emploi, de lessive de soude dans les proportions de 0,1 ml pour 160 ml de solution.

Pour opérer la coloration, mettre la plaque dans une cuvette, la face recouverte de gélose en-dessous, en la surélevant légèrement par de petites cales. Verser ensuite le réactif de manière à ce qu'il occupe complètement l'espace situé entre le fond de la cuvette et la couche de gélose, sans laisser de bulles d'air. Recouvrir le récipient d'une vitre, en obstruant soigneusement les interstices avec de la plastiline et laisser deux heures en contact.

Les plaques sont ensuite lavées dans deux bains successifs d'alcool à 50 p. 100, puis séchées quelques minutes à l'étuve à 37° .

En vue de l'enregistrement photométrique on doit séparer le film de gélose de son support en verre ; pour cela la plaque est plongée dans un bain d'eau glycérinée à 15 p. 100 pendant cinq heures environ.

**Résultats.**

Par les méthodes qui viennent d'être décrites, nous avons donc étudié les caractères électrophorétiques des sérums de 27 germons et thons rouges de l'Atlantique et de la Méditerranée. Nous allons maintenant donner les résultats de ces analyses.

**1° *Protéinogrammes.***

*Germon.*

Pour les 16 germons, 8 de l'Atlantique et 8 de la Méditerranée, l'électrophorèse a été effectuée sur deux plaques de gélose de format 18 × 24 cm contenant chacune 8 réservoirs $R_{14}$. Nous avons déposé les sérums en alternant selon la provenance. Les diagrammes sont présentés sur les figures 7 et 8.

L'intensité des taches correspondant aux différentes fractions protéiques a été enregistrée par un photomètre Zeiss. Les courbes obtenues permettent d'effectuer des mesures quantitatives indiquant l'importance des différentes fractions protéiques. Le pourcentage de ces fractions protéiques est déterminé par planimétrie [1].

Ces données sont rassemblées dans le tableau 7.

Les protéines sériques du germon se séparent en cinq fractions inégales. Par comparaison avec le sérum humain (fig. 7 ) on peut distinguer différentes fractions.

1) Une fraction de mobilité plus élevée que l'albumine et qui correspond à la fraction ϱ individualisée immunochimiquement par Grabar et Williams chez l'Homme et plus tard observée par électrophorèse simple sur papier et en gélose chez l'anguille d'avalaison par Drilhon *et al.* ( 1956 ).

2) Une fraction albumine très importante et légèrement plus accélérée que l'albumine humaine.

3) Une fraction α rapide ou $\alpha_1$.

4) Une fraction $\alpha_2$, quantitativement plus importante que $\alpha_1$.

5) Des β-globulines : une fraction $\beta_1$ bien visible et une trace infime de $\beta_2$ difficile à séparer de $\beta_1$.

La globuline correspondant à la mobilité des γ est pratiquement nulle.

En conclusion, l'électrophorèse simple met en évidence chez le germon cinq fractions protéiques essentielles : fraction ϱ, albumine, $\alpha_1$, $\alpha_2$ et les β-globulines. La fraction albumine est toujours la plus importante.

Les proportions des différents constituants varient légèrement d'un individu à l'autre sans qu'il soit possible d'établir de différence nette entre les deux sexes.

(1) Nous avons utilisé le planimètre de Morin.

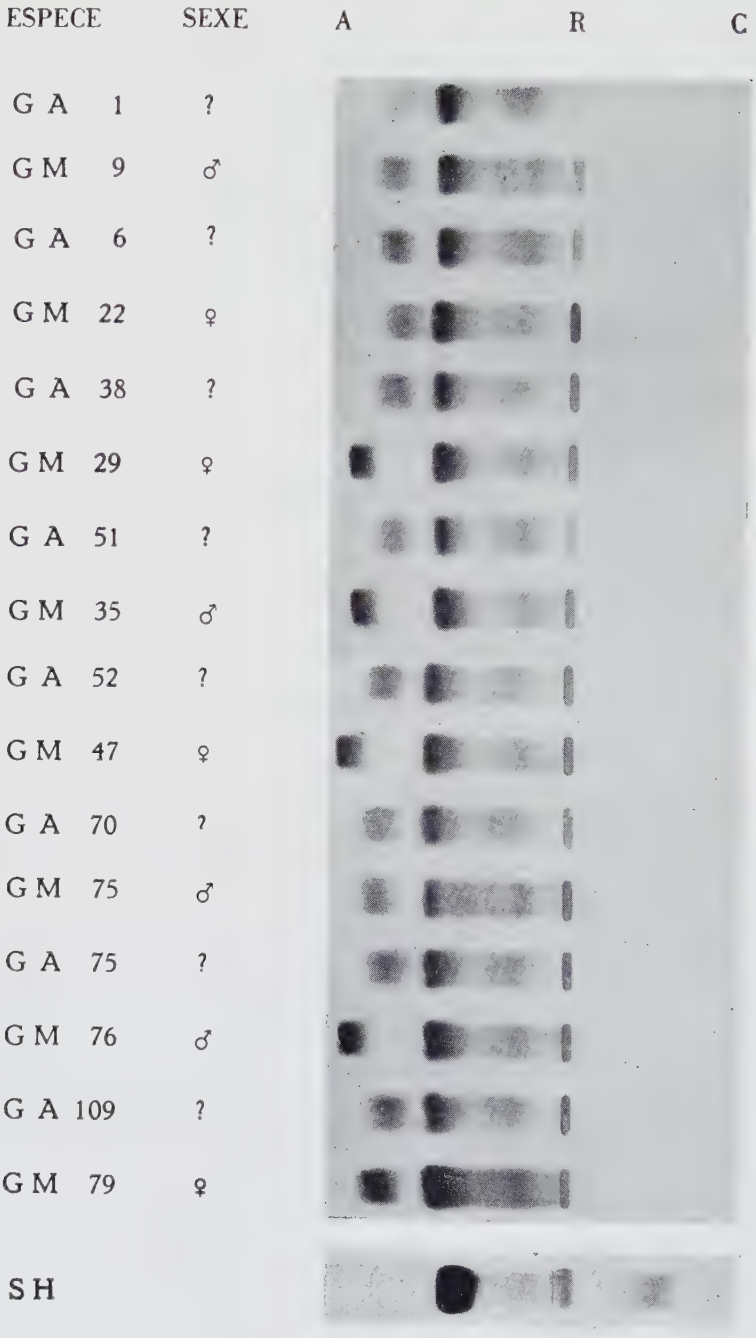



FIG. 7. — *Protéinogrammes des germons de l'Atlantique et de la Méditerranée.* G A germon de l'Atlantique, G M germon de la Méditerranée, S H sérum humain, R réservoir du sérum ; A anode, C cathode.

La mobilité des globulines et de l'albumine est la même pour tous les sérums ; la mobilité de la fraction ϱ est aussi la même pour les 8 germons atlantiques et 4 des germons méditerranéens, les 4 autres [1] possédant une fraction ϱ de mobilité nettement plus élevée.

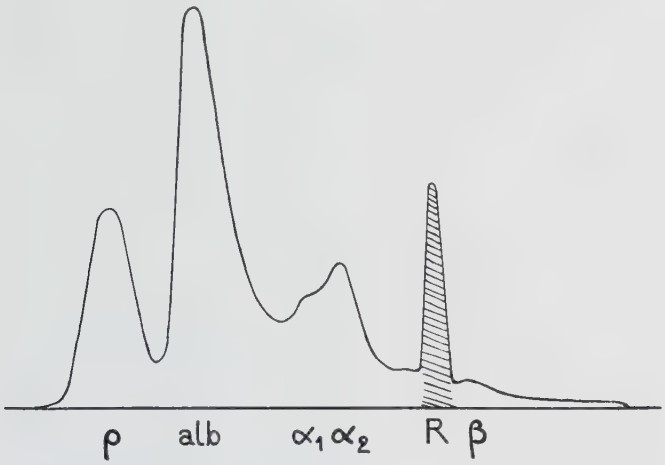



Fig. 8. — *Enregistrement photométrique d'un protéinogramme de germon.*

| N° | LT (cm) | Sexe | Pourcentage des fractions protéiques | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | ϱ | alb | $\alpha_1$ | $\alpha_2$ | β |
| **Germons de l'Atlantique** | | | | | | | |
| 1 | 66 | ? | 25,7 | 48,6 | 7,3 | 16,5 | 1,9 |
| 6 | 68,5 | » | 22,4 | 42,6 | 9,9 | 22,4 | 2,7 |
| 38 | 67 | » | 26 | 47,2 | 11,5 | 14 | 1,3 |
| 51 | 68 | » | 20 | 42 | 11,9 | 21,5 | 4,6 |
| 52 | 68 | » | 20,6 | 43,4 | 11,6 | 20,2 | 4,2 |
| 70 | 71 | » | 27,3 | 38,7 | 10 | 19,6 | 4,4 |
| 75 | 72 | » | 24,6 | 41 | 11,2 | 19,2 | 4 |
| 109 | 68 | » | 25,7 | 40,2 | 9,4 | 20 | 4,7 |
| Moyenne | | | 24 | 43 | 10,3 | 19,2 | 3,47 |
| **Germons de la Méditerranée** | | | | | | | |
| 9 | 65 | ♂ | 21,2 | 48,7 | 10,4 | 16,2 | 3,5 |
| 22 | 65 | ♀ | 19 | 55,5 | 8 | 14 | 2,5 |
| 29 | 70 | ♀ | 22,5 | 49,8 | 5,7 | 18,3 | 3,7 |
| 35 | 71 | ♂ | 24,5 | 50,3 | 3,2 | 18,3 | 3,7 |
| 47 | 70 | ♀ | 21,8 | 39,7 | 7,1 | 23,4 | 8 |
| 75 | 70 | ♂ | 21,2 | 38,2 | 8,2 | 22,4 | 10 |
| 76 | 70 | ♂ | 21,3 | 43,8 | 6,4 | 21,2 | 7,3 |
| 79 | 69 | ♀ | 20,5 | 48 | 9 | 23 | 5,5 |
| Moyenne | | | 21,5 | 46 | 7,2 | 19,6 | 5,52 |

Tabl. 7. — *Pourcentages des diverses fractions protéiques des sérums de 16 germons de l'Atlantique et de la Méditerranée* (valeurs obtenues par planimétrie des courbes photométriques des protéinogrammes).

(1) Ce sont les germons méditerranéens n° 29, 35, 47 et 76 (fig. 7).

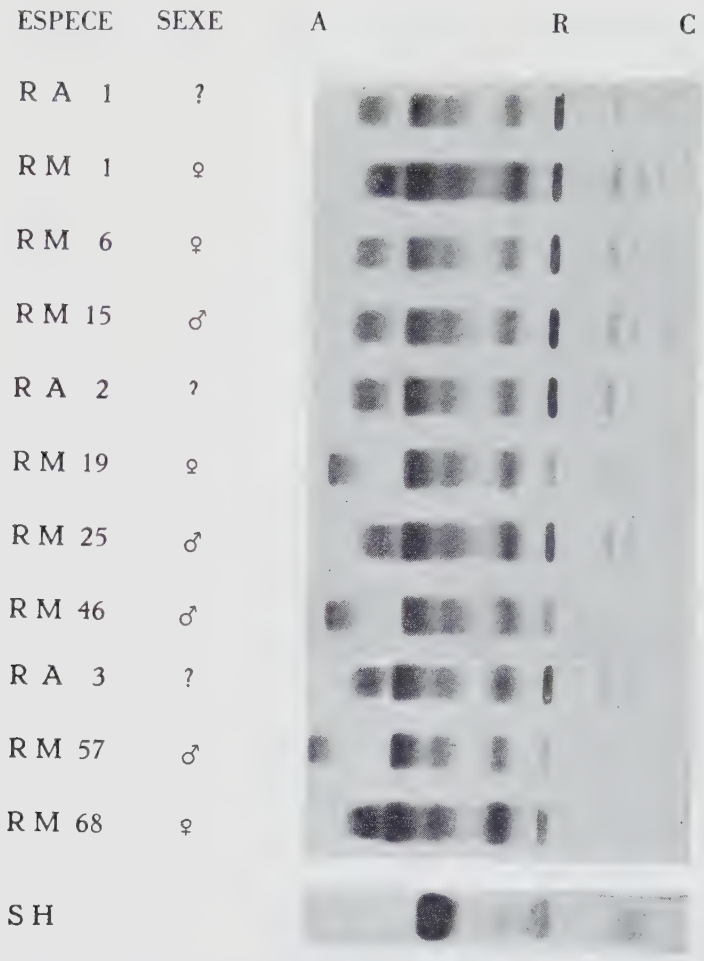



FIG. 9. — *Protéinogrammes des thons rouges de l'Atlantique et de la Méditerranée.* R A thon rouge de l'Atlantique, R M thon rouge de la Méditerranée, R réservoir ; A anode, C cathode.

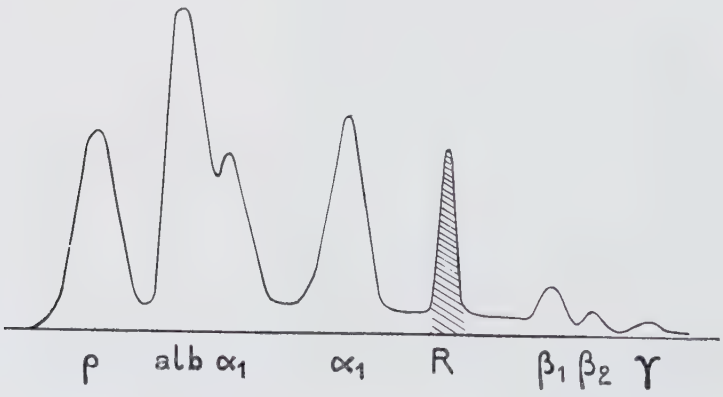



FIG. 10. — *Enregistrement photométrique d'un protéinogramme de thon rouge.*

*Thon rouge.*

La technique utilisée pour les sérums de thons rouges est la même que celle employée pour les sérums de germons. Les figures 9 et 10 montrent les protéinogrammes obtenus.

Le pourcentage des fractions protéiques est indiqué dans le tableau 8. Ces fractions, plus nombreuses que chez le germon sont les suivantes.

| N° | LT (cm) | Sexe | Pourcentage des fractions protéiques | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | ϱ | alb | $\alpha_1$ | $\alpha_2$ | $\beta_1$ | $\beta_2$ | $\gamma$ |
| Thons rouges de l'Atlantique | | | | | | | | | |
| 1 | 57,5 | ? | 21,5 | 32,6 | 16,8 | 20,3 | 6,7 | 1 | 1,1 |
| 2 | 76 | » | 18 | 34,3 | 16,5 | 23 | 6,2 | 1 | 1 |
| 3 | 60 | » | 21,5 | 32,6 | 17,3 | 22,1 | 4,9 | 1,3 | 0,3 |
| Moyenne | | | 20,3 | 33,1 | 16,9 | 21,8 | 5,9 | 1,1 | 0,8 |
| Thons rouges de la Méditerranée | | | | | | | | | |
| 1 | 105 | ♀ | 19 | 30,5 | 20,2 | 23,8 | 4,3 | 2 | 0,2 |
| 6 | 107 | ♀ | 19 | 38 | 15,8 | 18,5 | 6,4 | 1,1 | 1,2 |
| 15 | 107 | ♂ | 17,2 | 43 | 14 | 18,5 | 5,1 | 1,1 | 1,1 |
| 19 | 105 | ♀ | 15 | 37 | 21,4 | 24,3 | 1,6 | 0,2 | 0,2 |
| 25 | 107 | ♂ | 21,2 | 31,5 | 19,7 | 21 | 5,3 | 1 | 0,3 |
| 46 | 110 | ♂ | 17,4 | 36,2 | 21,5 | 22,3 | 2,1 | 0,3 | 0,2 |
| 57 | 110 | ♂ | 16 | 36,1 | 19,4 | 25,5 | 2,5 | 0,4 | 0,1 |
| 68 | 106 | ♀ | 19,3 | 29,4 | 20,1 | 24,9 | 5,7 | 0,5 | 0,1 |
| Moyenne | | | 18 | 35,2 | 19 | 22,3 | 4,1 | 0,7 | 0,44 |

Tabl. 8. — *Pourcentages des diverses fractions protéiques des sérums de* 11 *thons rouges de l'Atlantique et de la Méditerranée* (valeurs obtenues par planimétrie des courbes photométriques des protéinogrammes).

1) Une fraction ϱ d'une mobilité très grande mais irrégulière chez les différents individus, tantôt plus ou moins attachée à la fraction précédente, tantôt nettement séparée, ou même très éloignée de celle-ci.
2) Une fraction albumine, un peu plus accélérée que celle du sérum humain et toujours plus importante que les autres fractions.
3) Une fraction α rapide ou $\alpha_1$, un peu plus accélérée que celle de l'Homme.
4) Une fraction $\alpha_2$ de mobilité égale à celle de l'Homme.
5) Une fraction considérée comme $\beta_1$.
6) Une petite fraction $\beta_2$.
7) Une très petite fraction $\gamma$.

Ces deux dernières ne sont pas toujours bien décelées chez tous les individus, mais elles sont toutefois enregistrées par le photomètre.

En conclusion, nous avons mis en évidence sept fractions protéiques chez le thon rouge : fraction ϱ, albumine , $\alpha_1$, $\alpha_2$, $\beta_1$, $\beta_2$ et $\gamma$ qui caractérisent le thon rouge.

On n'observe pas de différence systématique entre les protéinogrammes des mâles et des femelles.

Quelques différences individuelles très légères peuvent être remarquées : mobilité irrégulière de la fraction ϱ ou variations dans la teneur en $\beta_2$ - et $\gamma$-globulines.

*Comparaison des protéinogrammes de germon et de thon rouge.*

1) L'électrophorèse en gélose montre cinq fractions protéiques dans le sérum de germon et sept fractions dans le sérum de thon rouge.

2) La dernière fraction du sérum de germon apparaît, par ce procédé, comme une fraction unique β-globuline tandis que chez le thon rouge les fractions $\beta_1$ et $\beta_2$ sont séparées et bien visibles.

3) La fraction correspondant à la mobilité des γ-globulines humaines est pratiquement nulle chez le germon alors qu'elle est représentée chez le thon rouge par une petite fraction bien distincte.

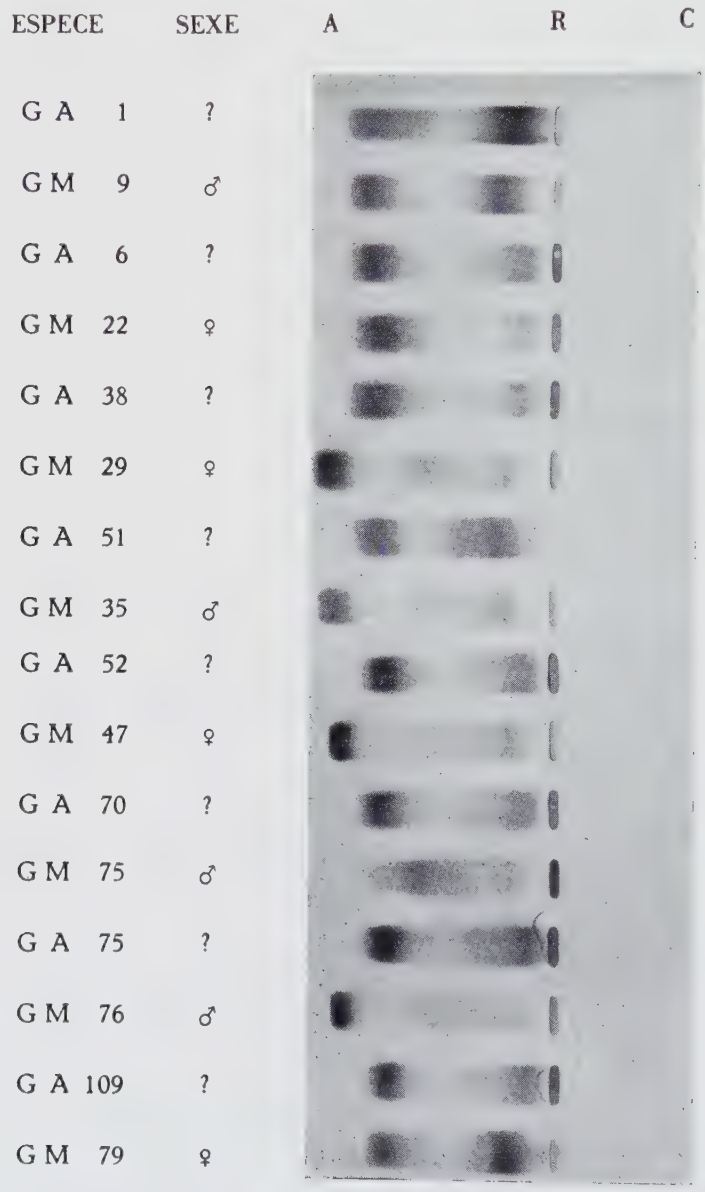



Fig. 11. — *Lipoprotéinogrammes des germons de l'Atlantique et de la Méditerranée.*
G A germon de l'Atlantique, G M germon de la Méditerranée, R réservoir ; A anode, C cathode.

**2° *Lipoprotéinogrammes.***

Certains auteurs ont signalé que chez les poissons les fractions protéiques du sérum se séparaient difficilement à cause de l'abondance des lipoprotéines. Chez les thons nous avons observé des fractions protéiques bien séparées et permettant l'enregistrement photométrique. C'est pourquoi il nous a paru intéressant d'étudier également les lipoprotéines sériques.

*Germon.*

Les lipoprotéines sériques de ce thon sont divisées généralement en deux fractions essentielles (fig. 11 et 12 ). La première se trouve toujours dans la même zone que la fraction protéique ϱ, bien

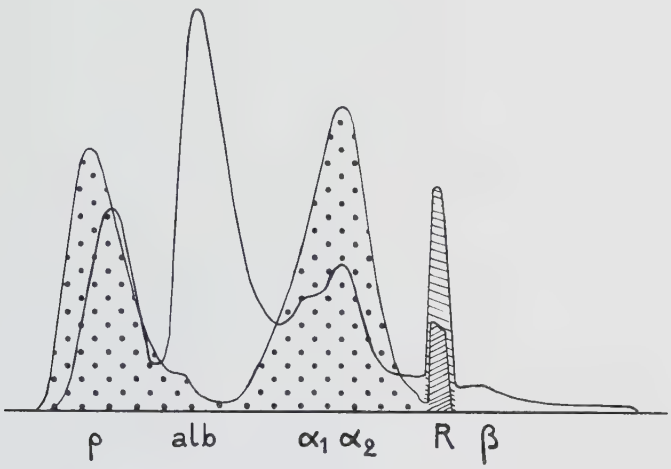



Fig. 12. — *Superposition du lipoprotéinogramme* (en pointillé) *et du protéinogramme d'un germon.*

que dans le cas de GM 75 (fig. 11 ) elle ne soit pas bien représentée. On peut la nommer lipoprotéine ϱ. La deuxième fraction se trouve dans la zone des α-globulines ($\alpha_1$ et $\alpha_2$) et peut être considérée comme un ensemble d'α-lipoprotéines ; elle est quantitativement très variable selon les individus.

On observe aussi une fraction infime de lipoprotéine dans la zone de l'albumine (lipoalbumine).

*Thon rouge.*

Chez ce poisson, nous avons toujours observé trois fractions lipoprotéiques dont la plus accélérée et la plus abondante (fig. 13 et 14 ) correspond à la fraction ϱ (lipoprotéine ϱ). Les deuxième et troisième fractions correspondent respectivement à l'albumine et à l'$\alpha_1$-globuline : elles sont quantitativement très faibles. Ce sont la lipoalbumine et l'$\alpha_1$-lipoprotéine.

*Comparaison des lipoprotéinogrammes de germon et de thon rouge.*

La fraction lipoprotéique ϱ se trouve chez le germon et le thon rouge en quantités assez voisines. La fraction lipoalbumine se présente comme une petite trace chez le premier ; elle est un peu plus prononcée chez le second. Une forte proportion des lipoprotéines du germon existe dans les α-globulines ($\alpha_1$ et $\alpha_2$), tandis que chez le thon rouge cette proportion est faible et se trouve seulement avec l'$\alpha_1$-protéine.

En résumé, la comparaison des lipoprotéines sériques de germon et de thon rouge montre des différences très nettes entre ces deux espèces. La quantité des lipoprotéines sériques est plus faible chez le thon rouge que chez le germon.

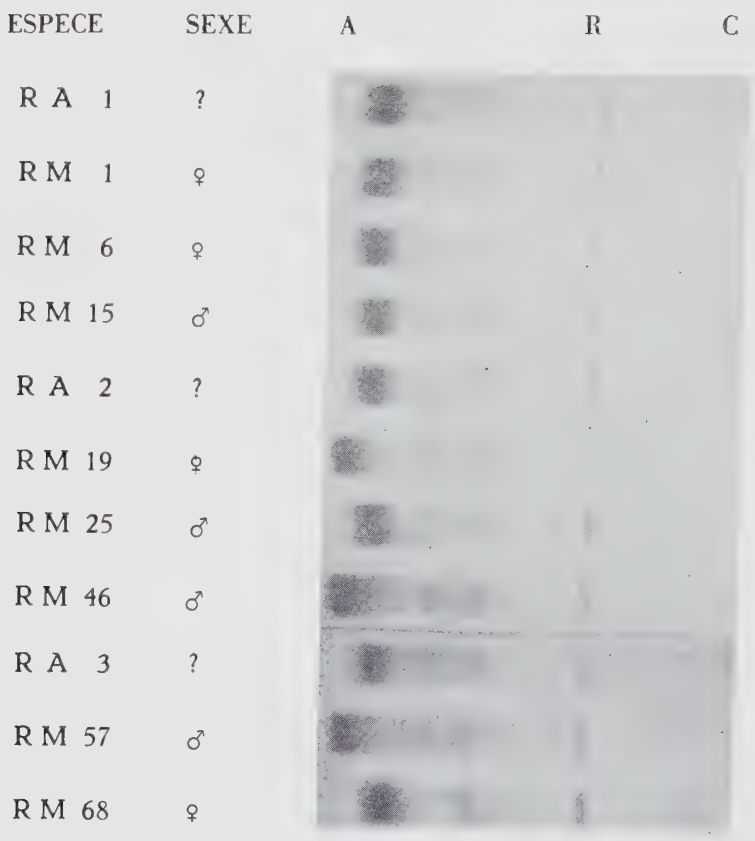



FIG. 13. — *Lipoprotéinogrammes des thons rouges de l'Atlantique et de la Méditerranée.* R A thon rouge de l'Atlantique, R M thon rouge de la Méditerranée, R réservoir ; A anode, C cathode.

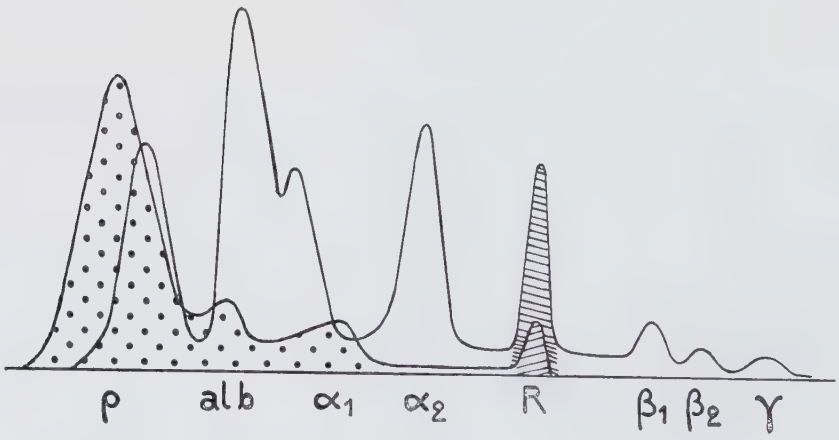



FIG. 14. — *Superposition du lipoprotéinogramme* (en pointillé) *et du protéinogramme d'un thon rouge.*

CHAPITRE II

# ÉTUDE IMMUNOLOGIQUE DES PROTÉINES SÉRIQUES

Au début de ce travail nous avons brièvement rappelé l'importance des réactions immunologiques et cité les résultats obtenus grâce à elles en ce qui concerne la biologie des poissons.

Pour l'étude des thons, nous avons utilisé la technique d'Ouchterlony par diffusion double qui permet le mieux de juger des ressemblances et des dissemblances existant entre deux antigènes.

Elle est basée sur la diffusion dans la gélose tamponnée, d'une part des sérums de différents poissons et d'autre part des immunsérums homologues ou hétérologues. Lorsque les réactifs se rencontrent, ils forment des lignes de précipités, parallèles et plus ou moins séparées.

**Matériel.**

a) *Sérums de thons rouges et de germons* (antigènes). Les sérums de germons et de thons rouges utilisés pour cette étude sont les mêmes que ceux employés pour l'électrophorèse simple.

b) *Immunsérums*. Quatre lapins ont été immunisés : deux (n° 318 et 319 ) contre le sérum de germon atlantique (GA6 ), deux (n° 320 et 321 ) contre le sérum de thon rouge atlantique (RA2 ). Ils ont reçu, par voie intramusculaire, des doses croissantes de sérum allant, par 0,05 ml, de 0,10 à 0,40 ml, soit 7 piqûres au rythme de 2 par semaine. Huit jours après la dernière injection, ils ont été saignés à blanc.

Les sérums ont été conservés afin de constituer un stock qui nous a servi pour toutes nos analyses immunologiques (en boîtes d'Ouchterlony et par immunoélectrophorèse).

Les expériences d'HERMANS ont montré que la concentration des immunsérums de lapin anti-souris permet de mettre en évidence des fractions mineures du sérum de souris, non décelées autrement, même avec du sérum de lapin hyperimmunisé. Aussi les anti-sérums de thons ont-ils été concentrés. Pour cela ils ont été précipités par le sulfate d'ammonium à demi-saturation. Cette précipitation s'opère en ajoutant tout d'abord 1/2 volume d'eau physiologique, puis goutte à goutte une solution de sulfate d'ammonium saturée. Le mélange est agité pendant toute la durée de l'opération sur agitateur magnétique. On centrifuge, le précipité est repris par un minimum d'eau bidistillée, puis dialysé contre de l'eau physiologique. La dialyse terminée, on ajoute à cette solution de protéines 1/10 du volume initial de sérum homologue qui avait été conservé à cet effet, pour stabiliser les protéines. Le volume final est le 1/3 du volume de départ, le sérum a donc été concentré 3 fois. Ces sérums ont été additionnés de 1/10 000 de merthiolate de sodium, puis répartis en ampoules de 10 ml.

**Mode opératoire.**

Les boîtes d'Ouchterlony ont été préparées avec différentes épaisseurs de gélose (3, 4, 5 mm) permettant de faire varier la contenance des réservoirs (tous d'un diamètre de 8 mm).

Dans ces boîtes nous avons pratiqué un réservoir central pour l'immunsérum et six à la périphérie pour les sérums de thon, de telle façon que la distance entre les réservoirs d'antigène et d'anticorps soit de 10 mm. Parfois nous n'en avons creusé que trois en changeant la distance entre les réservoirs d'antigènes et celui de l'immunsérum (12 mm).

Nous avons utilisé des quantités différentes de sérum de thon et d'immunsérum. Les meilleurs résultats ont été obtenus avec des boîtes contenant 5 mm d'épaisseur de gélose, en employant 0,15 ml de sérum de thon dilué au 1/10 dans l'eau physiologique et 0,15 ml d'immunsérum.

**Résultats.**

Au cours de ce travail nous voulions mettre en évidence des différences antigéniques éventuelles entres les sérums de : 1) germon et thon rouge ; 2) germons de l'Atlantique et de la Méditerranée ; 3) thons rouges de l'Atlantique et de la Méditerranée.

**1° *Différence antigénique entre germon et thon rouge.***

En utilisant l'immunsérum de lapin anti-sérum de germon et les sérums de germon (GA et GM) et de thon rouge (RA et RM), nous avons observé un seul antigène spécifique du germon et plusieurs antigènes communs aux deux espèces (fig. 15 et 16). Les essais sont exécutés avec les immunsérums des lapins 318, 319 et les sérums des deux espèces de thons des deux mers. Les résultats obtenus sont identiques.

Nous avons fait les mêmes essais avec les immunsérums de thon rouge (lapins 320, 321) et nous avons observé deux antigènes spécifiques du thon rouge (fig. 17 et 18). Il faut remarquer que l'antigène spécifique du germon est révélé très légèrement par un anti-sérum de thon rouge 321 (fig. 20). Comme dans le premier cas il existe plusieurs antigènes communs aux deux espèces.

**2° *Différence antigénique entre les germons de l'Atlantique et de la Méditerranée.***

Les deux immunsérums anti-germon (anti-GA) décèlent chez les 8 sérums de germons de l'Atlantique (GA) un antigène que l'on ne retrouve pas (dans les conditions de l'expérience) chez les 8 sérums des germons de la Méditerranée (GM) (fig. 19 et 20).

Par une autre expérience différant des précédentes seulement par une distance antigène-anticorps plus grande (12 mm), nous avons pu mettre en évidence, outre l'antigène spécifique du sérum de germon de l'Atlantique, un autre antigène qui se dédouble pour donner deux lignes floues avec le germon de la Méditerranée (fig. 21 et 22).

Aucune différence individuelle n'a été observée entre les poissons provenant de l'une ou de l'autre mer.

**3° *Différences antigéniques entre les thons rouges de l'Atlantique et de la Méditerranée.***

Avec l'immunsérum anti-thon rouge, nous n'avons pas observé de différence entre les thons rouges de l'Atlantique (fig. 23 ).

Mais une différence individuelle est détectée entre les thons rouges de la Méditerranée (fig. 24 ). Trois d'entre eux ($RM_{15}$, $RM_{25}$ et $RM_{68}$) ont montré un antigène spécifique croisant les antigènes communs des autres individus. Nous avons examiné le sérum de ces individus en les alternant avec les sérums de ceux de l'Atlantique (fig. 25 ) ; nous avons observé la même différence individuelle.

**Conclusion.**

Les résultats obtenus au cours de cette étude nous permettent donc de constater :

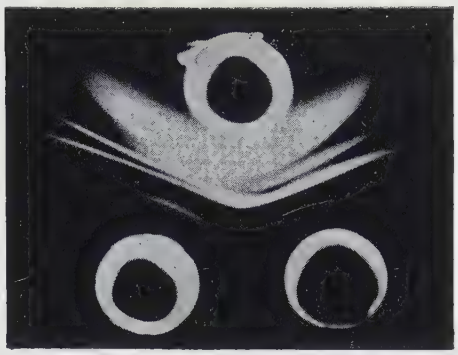
une différence antigénique très nette entre le germon et le thon rouge ;

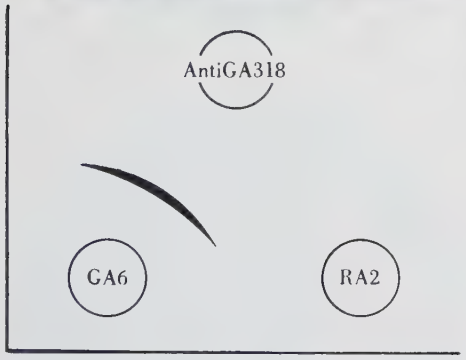
une différence antigénique entre les germons de l'Atlantique et ceux de la Méditerranée ;

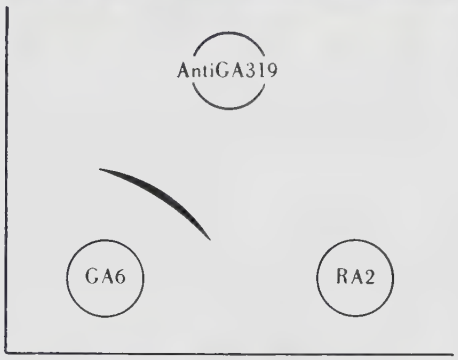
une différence individuelle parmi les thons rouges de la Méditerranée qui peut s'interpréter soit par un mélange de populations soit par des allotypes chez les thons semblables à ceux découverts par Oudin chez le lapin ( 1956 ).

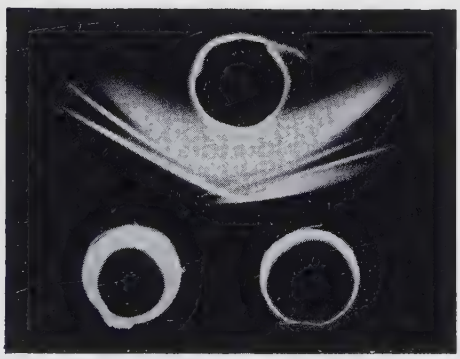
Mais le petit nombre d'échantillons de sérum dont nous disposions ( 8 de chaque mer ) ne nous permet pas de conclure vraiment s'il s'agit de populations différentes ou de simples différences individuelles groupées par le hasard.

Bien qu'il ne s'agisse que de résultats préliminaires, il semble bien que l'application des techniques immunologiques puisse permettre d'obtenir des précisions intéressantes sur la systématique et sur les migrations des thons de ces deux mers et de compléter ultérieurement les observations biologiques classiques.







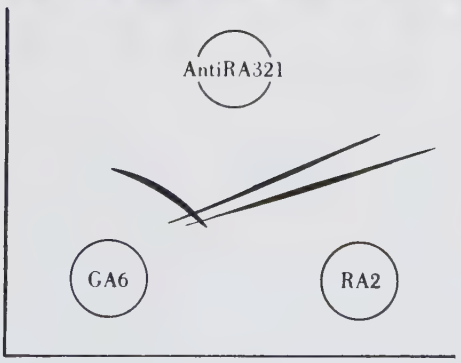



Fig. 15 à 18 (de gauche à droite et de haut en bas). — *Recherche de différences antigéniques entre le germon et le thon rouge.* Sur les schémas donnant la répartition des solutions dans les réservoirs, ont été figurées les lignes de précipités spécifiques.

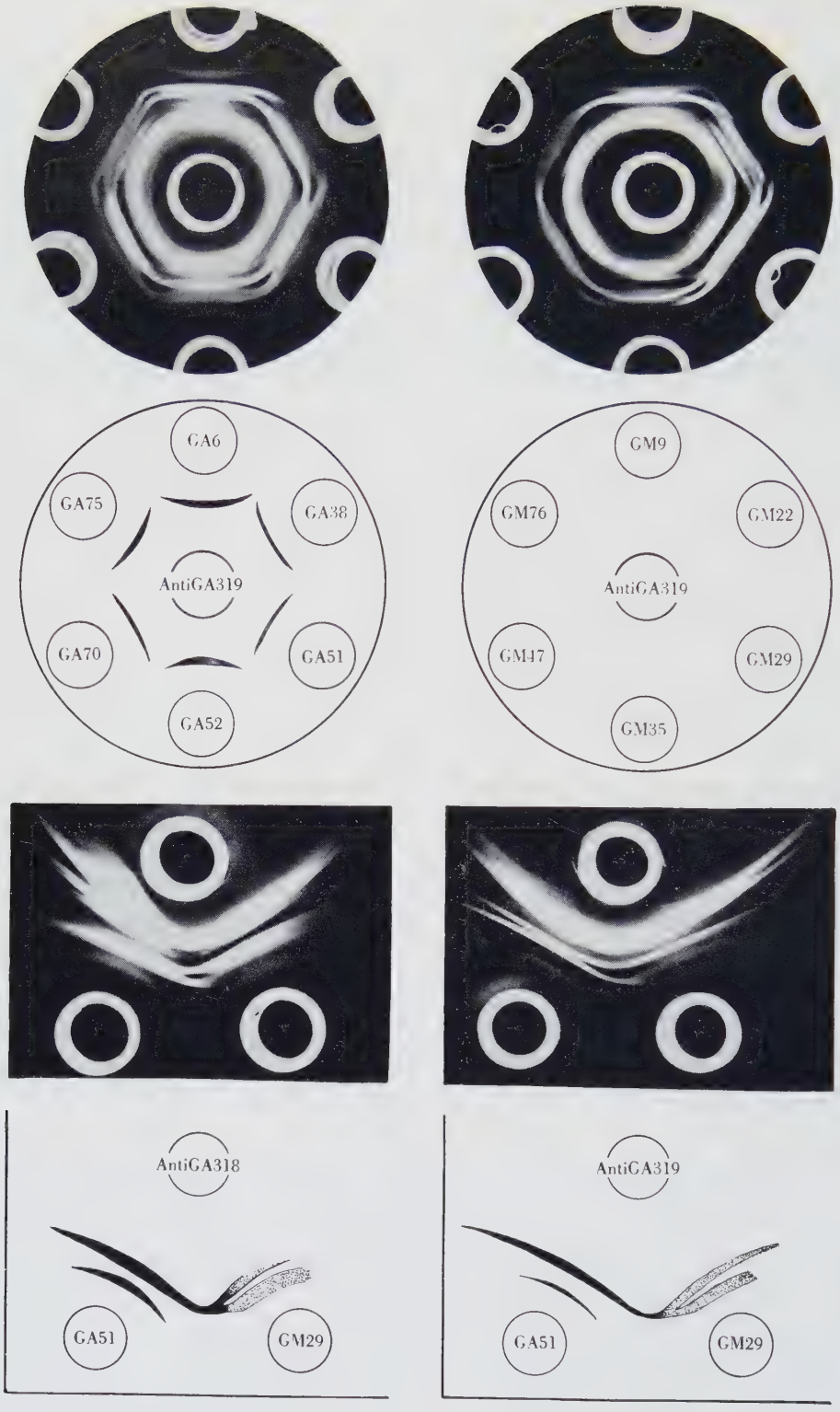



FIG. 19 à 22 (de gauche à droite et de haut en bas). — *Recherche de différences antigéniques entre les germons de l'Atlantique et de la Méditerranée.* Sur les schémas donnant la répartition des solutions dans les réservoirs, ont été figurées les lignes de précipités caractéristiques de l'origine.

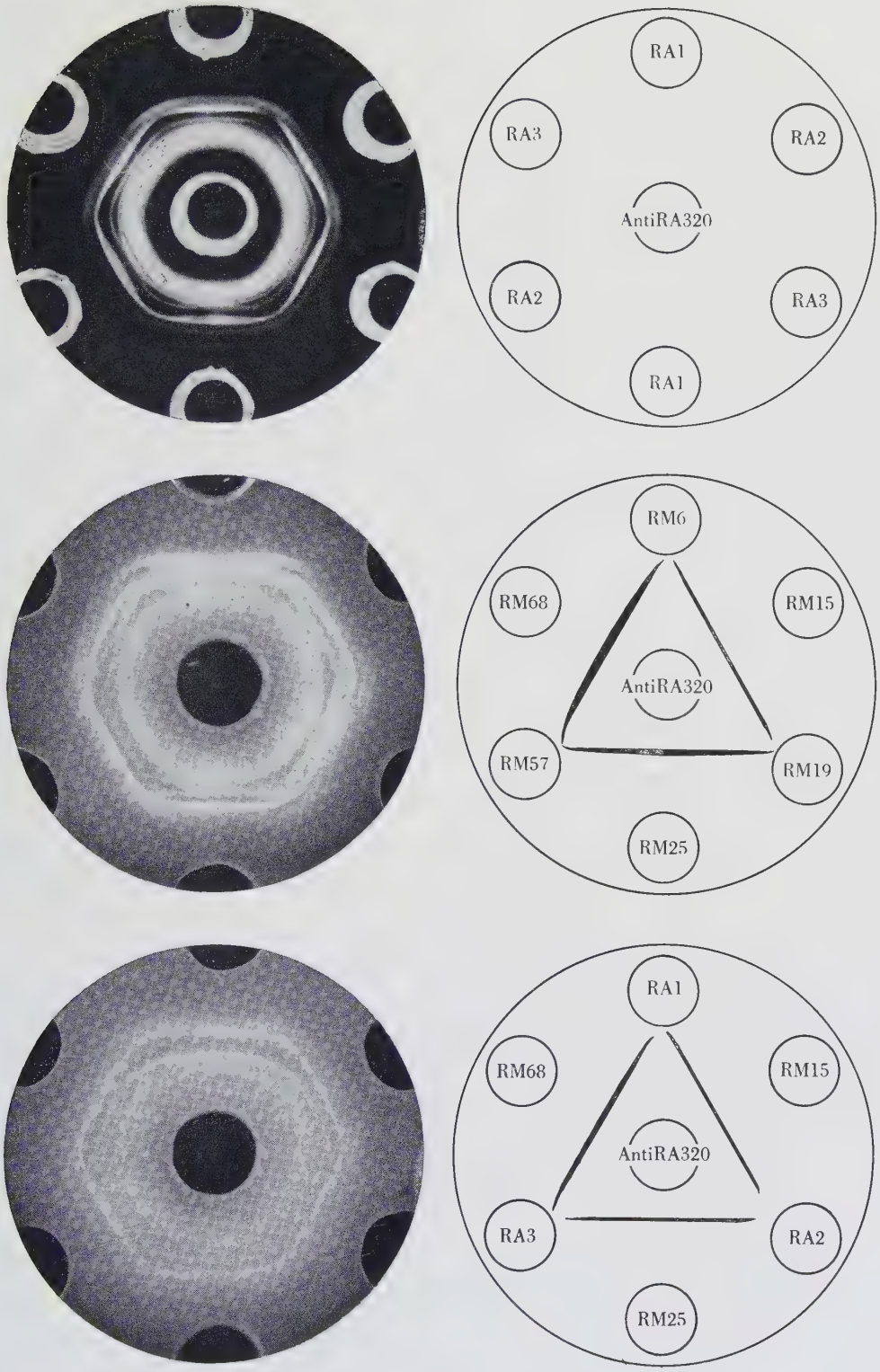



FIG. 23 à 25 (de haut en bas). — *Recherche de différences antigéniques entre les thons rouges de l'Atlantique et de la Méditerranée.* Sur les schémas donnant la répartition des solutions dans les réservoirs, ont été figurées les lignes de précipités représentant des différences individuelles entre thons rouges d'une même origine.

CHAPITRE III

# ANALYSE IMMUNOÉLECTROPHORÉTIQUE DES FRACTIONS PROTÉIQUES DU SÉRUM

Dans ce troisième chapitre nous décrivons la recherche par l'analyse immunoélectrophorétique de l'état, homogène ou hétérogène, des fractions protéiques du sérum séparées et caractérisées par l'électrophorèse simple, étude constituant le chapitre I.

L'analyse immunoélectrophorétique d'un sérum comprend : une séparation des fractions protéiques par électrophorèse simple dans un gel, puis, à partir d'une gouttière pratiquée parallèlement au sens de la migration électrophorétique, la diffusion dans le même gel de l'immunsérum spécifique de ce sérum (Grabar et Williams, 1953 et 1955 ).

Des arcs de précipitation se forment aux points de rencontre des protéines séparées au préalable et des anticorps précipitants correspondants. Chaque antigène réagit avec son anticorps homologue en donnant un arc indépendant.

Les constituants d'un sérum peuvent ainsi être dénombrés et définis d'après leurs mobilités et leurs réactions spécifiques avec leurs anticorps homologues. A l'heure actuelle, à l'aide d'un bon immunsérum riche en anticorps et d'une concentration suffisante, on peut distinguer une trentaine de constituants protéiques dans le sérum humain. Cette caractérisation peut être complétée par d'autres moyens : action enzymatique, coloration histochimique, etc. (Uriel et Grabar, 1956 ; Uriel, Gotz et Grabar, 1957).

**Matériel.**

Le matériel est le même que celui préparé pour l'analyse immunologique (chapitre II ). Il est constitué par les sérums de 27 thons, germons et thons rouges, et les immunsérums provenant de quatre lapins immunisés contre les sérums de ces deux thonidés.

**Mise en œuvre de l'immunoélectrophorèse.**

Les plaques de gélose sont préparées comme pour l'électrophorèse simple. Ensuite, il faut y creuser les réservoirs, et, après le premier temps de l'analyse, les gouttières.

La position du réservoir d'antigène, rond, de 0,8 cm de diamètre, doit être déterminée pour chaque antigène ; pour le sérum humain la position optimum est à égale distance des deux pôles.

La distance entre le réservoir et la gouttière varie selon les produits étudiés.

Les gouttières doivent avoir une longueur de 13 cm et une largeur de 0,5 cm ; elles sont découpées entre les réservoirs d'antigène dans le sens de la migration électrophorétique et pour assurer l'étanchéité à l'intérieur de la gouttière, on y verse à l'aide d'une pipette quelques gouttes de gélose à 1 p. 100 .

L'analyse s'opère en deux temps.

1) Les sérums après avoir été mélangés avec de la gélose à 2 p. 100 sans sel, sont déposés dans les réservoirs à raison de 0,1 ml de ce mélange par réservoir. Le courant électrique est établi pendant quelques heures.

2) Le temps nécessaire à l'électrophorèse étant passé et les gouttières préparées, les plaques sont posées sur une surface horizontale. On verse ensuite dans chaque gouttière 1,5 ml d'immunsérum. Les plaques sont gardées pendant quatre à huit jours dans une enceinte légèrement humide et à température constante. Les lignes de précipitation apparaissent et se précisent durant ce laps de temps.

Les arcs ainsi obtenus par immunoélectrophorèse dans la plaque de gélose figurent la précipitation des complexes antigènes-anticorps insolubles dans l'eau.

Des essais préliminaires nous ont montré que pour obtenir les meilleures séparations avec une différence de potentiel de 100 V il fallait faire le réservoir à 11 cm de l'anode et 7 cm de la cathode, les gouttières à 0,8 cm du réservoir, et poursuivre l'électrophorèse pendant quatre heures. Tous les résultats que nous donnons ont donc été obtenus dans ces conditions, et en utilisant purs les sérums de thons et les immunsérums de lapins.

*Fixation.* Ce stade, nécessaire en électrophorèse simple, est supprimé du fait de l'insolubilité des complexes précipités. Pour éliminer l'excès de protéines qui n'a pas réagi, les plaques sont immergées pendant deux ou trois jours dans l'eau physiologique ; cette eau est changée deux ou trois fois par jour.

Les plaques sont ensuite séchées de la même façon que pour l'électrophorèse simple.

*Coloration.* Parmi les colorants histochimiques le rouge ponceau est le mieux adapté à la coloration des arcs de précipitation, lorsque l'immunsérum employé est du sérum de lapin. Les plaques sont immergées pendant 15 minutes dans une solution de rouge ponceau à 1 p. 1 000 dans l'acide acétique à 2 p. 100. Elles sont ensuite lavées dans deux bains successifs d'acide acétique à 2 p. 100 pendant quelques minutes.

Après coloration, les plaques de gélose peuvent être photographiées et les constituants protéiques du sérum dénombrés et déterminés par une comparaison avec ceux du sérum humain normal.

Ces constituants sont désignés par des chiffres et, en considérant leur degré de mobilité, sont repérés par rapport aux constituants du sérum humain.

**Résultats.**

1) *Germon.*

Nous avons effectué l'analyse immunoélectrophorétique des seize sérums de germons au moyen des deux anti-sérums de germon 318-319.

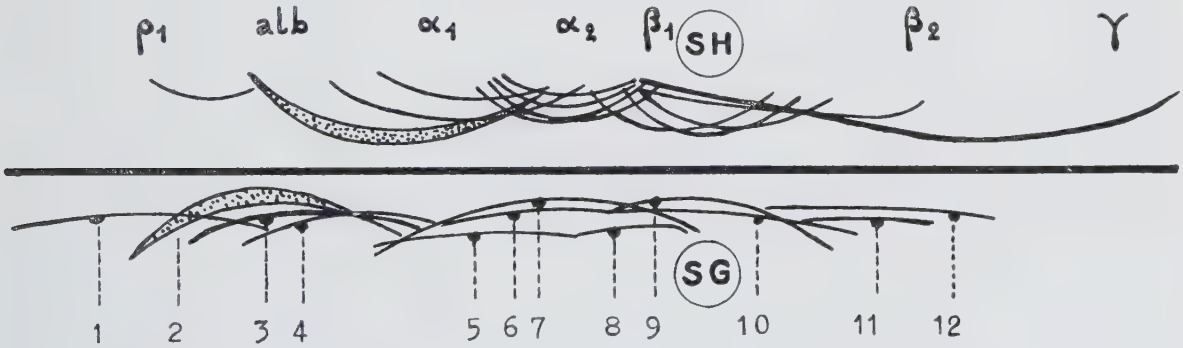



FIG. 26. — *Comparaison des constituants du sérum de germon avec ceux du sérum humain normal : schéma d'analyse immunoélectrophorétique du sérum humain avec le sérum de cheval anti-sérum humain* (S H) *et schéma d'analyse immunoélectrophorétique du sérum de germon avec le sérum de lapin anti-sérum de germon* (S G).

La ligne 1 correspond à la mobilité la plus grande, celle de la fraction $\rho_1$ ; la ligne 2 a une mobilité un peu plus accélérée que celle de l'albumine humaine ; les lignes 3 et 4 ont une mobilité un peu plus accélérée que les $\alpha_1$ - globulines ; les lignes 5, 6, 7 et 8 ont une mobilité d'$\alpha_2$ - globulines ; les lignes 9 et 10 ont une mobilité de $\beta_1$ - globulines ; les lignes 11 et 12 ont une mobilité de $\beta_2$ - globulines.

Dans tous les cas il a été possible de dénombrer 12 lignes bien qu'elles aient toujours été plus nettes avec l'anti-sérum 319 qu'avec l'anti-sérum 318. Le dessin de la figure 26 donne un schéma de ces résultats.

Pour 4 serums de germons de la Méditerranée nous n'avons pas retrouvé de façon aussi nette qu'avec l'électrophorèse simple les différences de migration de la fraction ρ. Mais la ligne de précipitation correspondant à cette fraction est mal définie, ce qui laisse une grande imprécision sur la vitesse de migration électrophorétique.

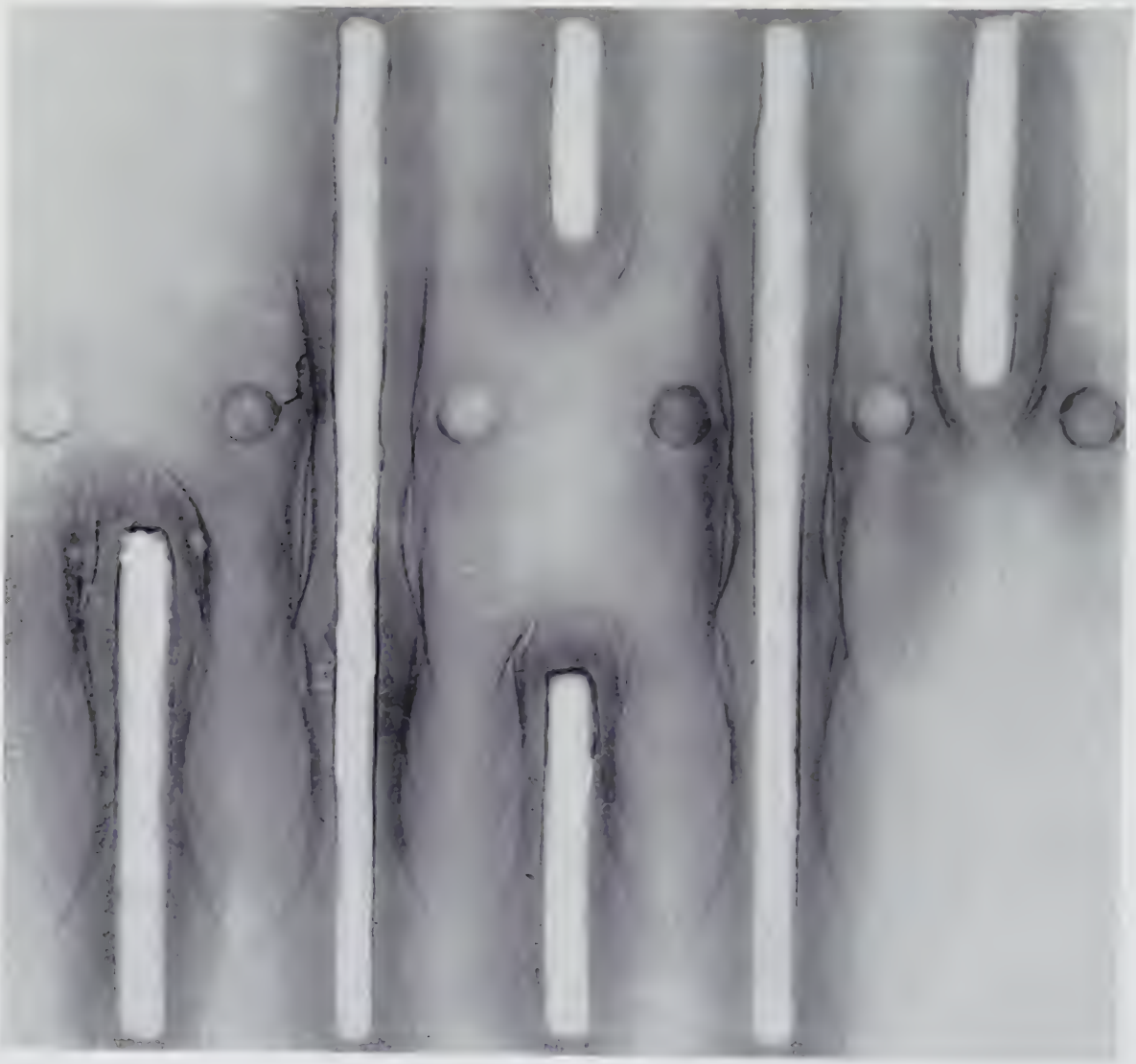


FIG. 27. — *Démonstration par immunoélectrophorèse, de la communauté antigénique entre les sérums de germons de l'Atlantique et de la Méditerranée.* Les réservoirs ronds sont remplis de sérum de germon, en alternant de gauche à droite sérum G A et G M ; les gouttières sont remplies de sérum de lapin anti-sérum de germon (immunsérum 319). (Les bords supérieur et inférieur de la figure correspondent respectivement aux bords cathodique et anodique de la plaque).

Par contre on voit que l'analyse immunoélectrophorétique a permis de déceler 2 $\alpha_1$, 4 $\alpha_2$, 2 $\beta_1$ et 2 $\beta_2$-globulines subdivisant ainsi en 12 constituants, avec la fraction ρ et l'albumine, les 5 fractions décelées par l'électrophorèse simple.

Cette technique ne permet pas de retrouver les différences antigéniques entre germons de l'Atlantique et germons de la Méditerranée que nous avions observées avec la technique d'Ouchterlony. On dénombre autant de lignes avec les sérums provenant de l'Atlantique qu'avec ceux provenant de la Méditerranée (fig. 30 ). Pour essayer de retrouver l'antigène, propre aux germons de l'Atlantique, détecté par la précipitation en gel, nous avons eu l'idée, à la suite de la lecture d'un travail d'HERMANS, d'utiliser des gouttières interrompues.

Deux électrophorèses sont conduites parallèlement avec deux sérums provenant d'individus de l'Atlantique et de la Méditerranée. La gouttière d'immunsérum est placée entre les deux réservoirs et est interrompue dans les régions des $\alpha_1$, $\alpha_2$, $\beta_1$ et $\beta_2$-globulines. On doit retrouver ainsi les images des boîtes d'Ouchterlony : les lignes provenant d'un même antigène convergent, elles se croisent si les antigènes sont différents.

Les images que nous avons obtenues par ce procédé ne nous ont pas permis de retrouver l'antigène propre du germon de l'Atlantique (fig. 27 ).

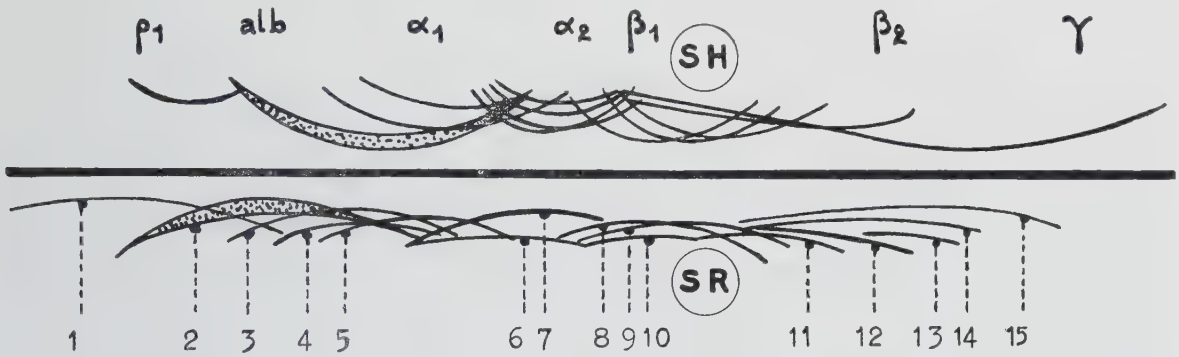



FIG. 28. — *Comparaison des constituants du sérum de thon rouge avec ceux du sérum humain normal : schéma d'analyse immunoélectrophorétique du sérum humain avec le sérum de cheval anti-sérum humain* (S H) *et schéma d'analyse immunoélectrophorétique du sérum de thon rouge avec le sérum de lapin anti-sérum de thon rouge* (S R).

La ligne 1 correspond à la mobilité la plus grande, celle de la fraction $\varrho_1$ ; la ligne 2 a une mobilité un peu plus accélérée que celle de l'albumine humaine ; les lignes 3, 4 et 5 ont une mobilité d'$\alpha_1$ - globulines ; les lignes 6 et 7 ont une mobilité d'$\alpha_2$ -globulines ; les lignes 8, 9, 10 et 11 ont une mobilité de $\beta_1$ - globulines ; les lignes 12, 13 et 14 ont une mobilité de $\beta_2$ - globulines ; la ligne 15 a une mobilité de $\gamma$ - globulines.

2) *Thon rouge.*

L'analyse immunoélectrophorétique a été effectuée pour les onze sérums de thons rouges au moyen des deux anti-sérums de thon rouge : 320 et 321.

Comme pour les germons, toutes les images ont été pratiquement identiques mais toujours plus nettes avec l'antisérum 321 qu'avec le 320 ; là encore il ne nous a pas été possible d'observer des différences dans la migration des fractions $\varrho$ qui étaient sensiblement plus rapides en électrophorèse simple.

L'analyse immunoélectrophorétique a permis de détecter plus de constituants que l'électrophorèse simple n'avait révélé de fractions (fig. 28 ) : 3 $\alpha_1$, 2 $\alpha_2$, 4 $\beta_1$ et 3 $\beta_2$ portent à 15, avec la fraction $\varrho$, l'albumine et les $\gamma$-globulines, le nombre des constituants, au lieu des 7 fractions dénombrées par électrophorèse.

Aucune différence individuelle immunologique n'a pu être observée entre les sérums provenant de la Méditerranée contrairement à ce que l'on avait observé avec la diffusion en gel : tous les sérums donnent le même nombre de lignes (fig. 30) et, le procédé des gouttières interrompues comme pour le germon (fig. 29 ), n'a pas permis d'observer l'antigène supplémentaire des quelques sérums de thons rouges de la Méditerranée.

3) *Rapport antigénique entre les sérums de germon et de thon rouge.*

Le tableau 9 résume les résultats obtenus par l'analyse immunoélectrophorétique. On voit que les $\alpha_1$-globulines de thon rouge contiennent un seul constituant, les $\beta_1$ deux constituants et les $\beta_2$ un seul constituant, la fraction $\gamma$ un seul constituant, tous les cinq apparemment absents du germon. Par contre les $\alpha_2$-globulines du germon contiendraient deux constituants absents du thon rouge. Quant aux 10 constituants présents à la fois dans les deux sérums il n'est pas possible d'affirmer qu'ils sont identiques.

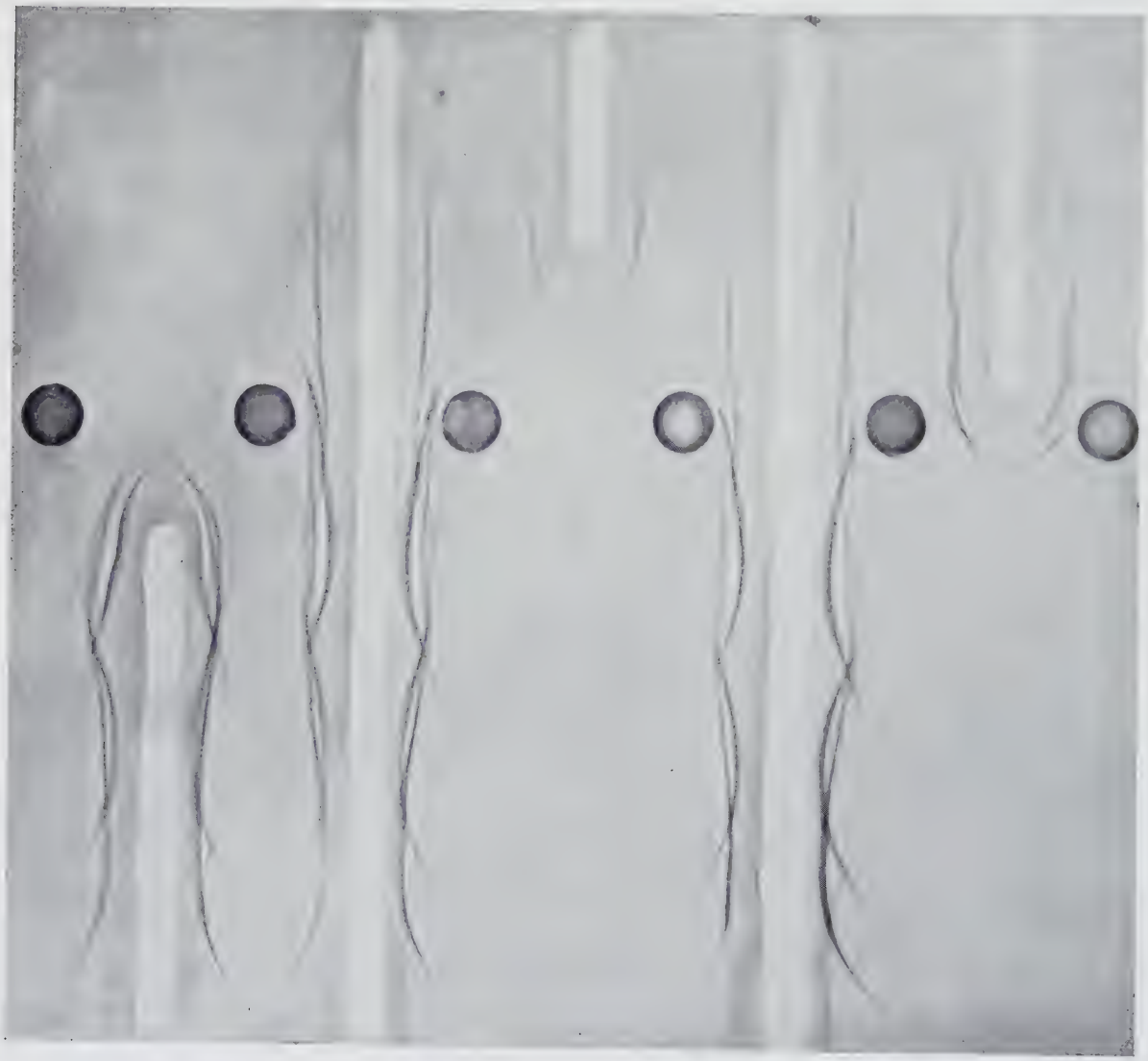


FIG. 29. — *Démonstration par immunoélectrophorèse, de la communauté antigénique entre les sérums de thons rouges de l'Atlantique et de la Méditerranée.* Les réservoirs ronds sont remplis de sérum de thon rouge, en alternant de gauche à droite sérum R A et R M ; les gouttieres sont remplies de sérum de lapin anti-sérum de thon rouge (immunsérum 321). (Les bords supérieur et inférieur de la figure correspondent respectivement aux bords cathodique et anodique de la plaque).

Pour le rechercher nous avons procédé à des réactions croisées : sérums de germon — anti-sérums de thon rouge, sérums de thon rouge — anti-sérums de germon.

FIG. 30. — *Aspects immunoélectrophorétiques des constituants protéiques des sérums de thons rouges et de germons de l'Atlantique et de la Méditerranée.* De haut en bas

sérum thon rouge 2 atlantique avec immunsérum 321,
sérum thon rouge méditerranéen avec immunsérum 321,
sérum germon 6 atlantique avec immunsérum 319,
sérum germon méditerranéen avec immunsérum 319,
sérum humain avec immunsérum de cheval (anti-sérum humain).

Les bords gauche et droit de la figure correspondent respectivement aux bords anodique et cathodique de la plaque).

Les analyses immunoélectrophorétiques des sérums de thon rouge au moyen des immunsérums anti-germon ont révélé 11 à 12 lignes suivant les sérums (fig. 31 ). Ces lignes étaient parfois peu nettes et difficiles à individualiser. Mais il y en avait certainement plus de 10, chiffre que le tableau 9 laissait prévoir. Il faut donc penser que d'une part les 10 constituants sont bien communs

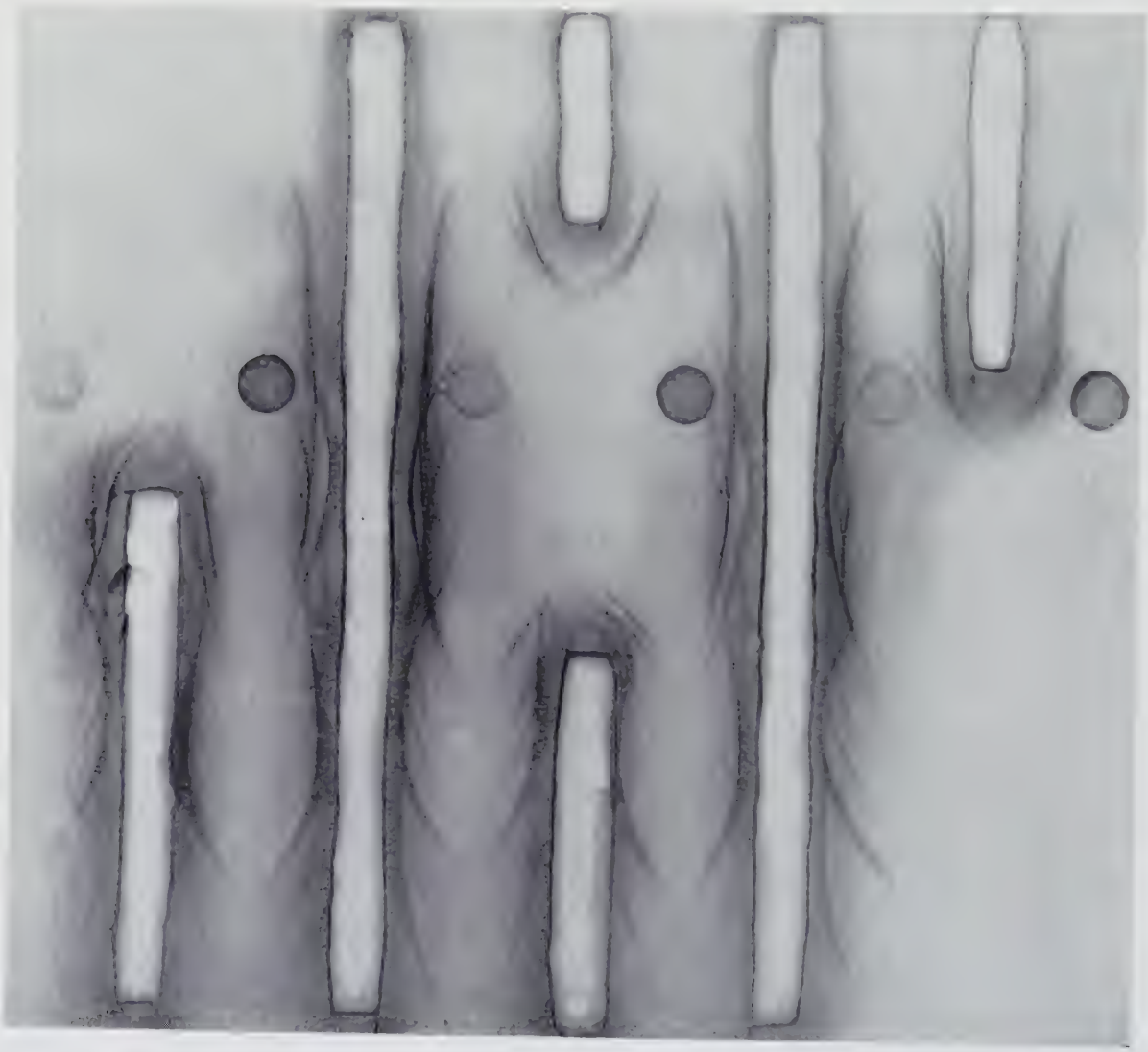


FIG. 31. — *Démonstration par immunoélectrophorèse, de la communauté antigénique entre les sérums de germon et de thon rouge.* Les réservoirs ronds sont remplis de sérum de thon, en alternant de gauche à droite sérum de germon et de thon rouge atlantiques (G A 6 et R A 2). Les gouttières sont remplies de sérum de lapin anti-sérum de germon (immunsérum 319). (Les bords supérieur et inférieur de la figure correspondent respectivement aux bords cathodique et anodique de la plaque).

aux deux espèces et que probablement les deux $\alpha_2$ révélées dans les sérums de germon existent aussi dans les sérums de thon rouge, mais en trop faible quantité pour provoquer la formation des anticorps correspondants chez le lapin.

Inversement l'analyse immunoélectrophorétique des sérums de germon au moyen des immunsérums anti-thon rouge ont permis de dénombrer 12 lignes (fig. 32 ) donc deux de plus que celles prévues par le tableau 9. Là encore il faut penser que certains constituants du sérum de thon rouge existent dans le sérum de germon, mais en trop faible quantité pour provoquer la formation d'anticorps chez le lapin.

FIG. 32. — *Démonstration par immunoélectrophorèse, de la communauté antigénique entre les sérums de germon et de thon rouge.* Les réservoirs ronds sont remplis de sérum de thon, en alternant de gauche à droite sérum de germon et de thon rouge atlantiques (G A 6 et R A 2) ; les gouttières sont remplies de sérum de lapin anti-sérum de thon rouge (immunsérum 321). (Les bords supérieur et inférieur de la figure correspondent respectivement aux bords cathodique et anodique de la plaque.)

Enfin l'analyse immunoélectrophorétique conduite en gouttières interrompues n'a pas permis d'individualiser des constituants propres au germon ou au thon rouge (fig. 31 et 32 ) contrairement aux résultats obtenus avec la précipitation en gel (fig. 15 et 16, 17 et 18 ).

**Conclusion.**

L'analyse immunoélectrophorétique des 16 sérums de germon et des 11 sérums de thon rouge a permis de dénombrer 12 constituants protéiques dans les sérums du premier dont 10 au moins sont communs avec le thon rouge et 15 constituants dans les sérums du second dont 10 au moins sont communs avec le germon.

Les résultats des réactions croisées suggèrent que certains des constituants propres à chacune des deux espèces pourraient être présents dans l'autre mais en beaucoup plus faible quantité. Par analyse immunoélectrophorétique nous n'avons pas pu observer les différences antigéniques entre les germons de l'Atlantique et ceux de la Méditerranée ni parmi les thons rouges de la Méditerranée, contrairement aux résultats que nous avons obtenus par l'analyse immunologique.

| Fractions protéiques du sérum des thons séparés en électrophorèse en gélose | Nombre de constituants communs et particuliers au germon et au thon rouge | | |
|---|---|---|---|
| | Germon : constituants particuliers | Germon et thon rouge : constituants communs | Thon rouge : constituants particuliers |
| fraction ϱ | | 1 | |
| albumine | | 1 | |
| $\alpha_1$-globuline | | 2 | 1 |
| $\alpha_2$-globuline | 2 | 2 | |
| $\beta_1$-globuline | | 2 | 2 |
| $\beta_2$-globuline | | 2 | 1 |
| $\gamma$-globuline | | | 1 |

Tabl. 9. — *Nombre des constituants protéiques communs et particuliers révélés par l'analyse immunoélectrophorétique des sérums de germon et de thon rouge.*

## RÉSUMÉ ET CONCLUSIONS GÉNÉRALES

La sérologie et l'immunologie appliquées à l'étude des poissons offrent au biologiste un champ de recherche particulièrement vaste. C'est seulement depuis une dizaine d'années que ces techniques sont utilisées à des fins biologiques et les travaux ont commencé lorsque s'est fait sentir le besoin de caractères génétiques indépendants des facteurs de milieu pour préciser des notions de races ; les résultats publiés sont encore peu nombreux.

Le choix du germon et du thon rouge comme matériel de travail tient non seulement à l'intérêt du sérologiste pour des espèces encore imparfaitement connues, de son point de vue, mais également au fait que des problèmes raciaux se posent au biologiste désireux de connaître les rapports existant entre les populations de thons de deux mers voisines.

L'étude sérologique de 273 thons ( 200 germons et 73 thons rouges) et l'étude immunologique de 27 thons ( 16 germons et 11 thons rouges) provenant, pour chaque espèce, de l'Atlantique et de la Méditerranée, nous ont fourni des résultats qui peuvent se résumer de la manière suivante.

**1° *Groupes sanguins.***

La recherche des antigènes érythrocytaires et des isoagglutinines sériques par la réaction d'agglutination a permis de démontrer l'existence de groupes sanguins chez les germons atlantiques et méditerranéens que nous nommons : I, II, I-II et 0.

Ces groupes sont comparables aux groupes A, B, AB et 0 que l'on trouve chez l'Homme. Les résultats obtenus montrent que la fréquence de groupes sanguins n'est pas la même chez les germons de l'Atlantique et de la Méditerranée, les premiers ayant 59 p. 100 des groupes I et I-II et les seconds 89 p. 100.

Il existe donc des différences très nettes entre les répartitions des différents groupes en Atlantique et en Méditerranée.

La faible teneur en isoagglutinine du sérum de thon rouge ne nous a pas permis de déterminer des groupes sanguins chez ce poisson par isoagglutination à l'aide de la réaction croisée.

**2° *Electrophorèse en gélose.***

*Germon.* L'électrophorèse simple met en évidence chez le germon cinq fractions protéiques essentielles : fraction albumine, $\alpha_1$, $\alpha_2$ et les $\beta$-globulines.

Les protéinogrammes des diverses fractions varient légèrement d'un individu à l'autre sans qu'il soit possible d'établir de différence nette entre les deux sexes.

La mobilité des globulines et de l'albumine est la même dans les sérums que nous avons étudiés ; celle de la fraction $\varrho$ est la même chez les 8 germons pêchés dans l'Atlantique, par contre, 4 des 8 sérums provenant des germons méditerranéens possédaient une fraction $\varrho$ de mobilité nettement plus élevée.

*Thon rouge.* On dénombre 7 fractions protéiques dans le sérum de thon rouge, à savoir : la fraction $\varrho$, l'albumine, les $\alpha_1$, $\alpha_2$, $\beta_1$, $\beta_2$ et $\gamma$-globulines ; on n'observe pas de différence systématique entre les protéinogrammes des mâles et des femelles.

Quelques différences individuelles très légères peuvent être remarquées, comme la mobilité irrégulière de la fraction $\varrho$ ou les variations dans la teneur en $\beta_2$ et $\gamma$ - globulines.

**3° *Immunologie.***

Les résultats obtenus au cours de l'étude immunologique ont permis de constater les faits suivants.

a) Une différence antigénique existe entre les germons de l'Atlantique et ceux de la Méditerranée ; mais le petit nombre de sérums convenables dont nous disposions ( 8 de chaque mer ) ne nous permet pas de conclure s'il s'agit de différences de populations ou de simples différences individuelles groupées par hasard.

b) Une différence individuelle existe parmi les thons rouges de la Méditerranée. Une telle différence a été découverte chez l'albacore de l'Océan indien (Suzuki, 1959 ). Elle est difficile à interpréter par suite du petit nombre d'individus étudiés par nous, mais en tous cas elle est intéressante à signaler. Peut-être s'agit-il d'allotypes semblables à ceux découverts par Oudin ( 1956 ) chez le lapin.

**4° *Analyse immunoélectrophorétique.***

Les essais immunoélectrophorétiques effectués sur les sérums de germons et de thons rouges de l'Atlantique et de la Méditerranée ont montré qu'il existe dans le sérum de germon 12 constituants antigéniques correspondant à 5 fractions principales électrophorétiques et chez le thon rouge 15 constituants pour 7 fractions protéiques. Parmi ces constituants 10 au moins sont communs aux deux espèces. De plus certains des constituants qui semblent spécifiques sont peut-être communs mais présents en très faible quantité chez l'espèce d'où ils paraissent être absents.

Si cette dernière technique nous a permis de mettre en évidence une différence du nombre des constituants protéiques entre le germon et le thon rouge, nous n'avons pas pu trouver de différence entre les germons de l'Atlantique et ceux de la Méditerranée, ni de différence individuelle parmi les thons rouges de la Méditerranée comme celle que nous avons observée par la méthode d'Ouchterlony.

L'ensemble de nos résultats montre que la différence spécifique entre le germon et le thon rouge se marque bien dans les caractères sérologiques.

1) Le classement par groupes sanguins est facile chez le germon, difficile sinon impossible (par la recherche des isoagglutinines) chez le thon rouge.

2) Le nombre des constituants protéiques décelés dans les sérums de germon est plus faible que dans les sérums de thon rouge. Il n'existe pas de $\gamma$-globulines et les $\alpha_1$, $\beta_1$ et $\beta_2$ globulines s'y trouvent en moins grand nombre.

3) Les $\alpha$-lipoprotéines sont très abondantes chez le germon et comprennent les fractions $\alpha_1$ et $\alpha_2$ alors qu'elles sont en quantité nettement moindre chez le thon rouge et ne comprennent que la fraction $\alpha_1$.

4) Les sérums anti-germon détectent dans les sérums de germon un constituant absent du sérum de thon rouge, du moins ceci est très net sur les boîtes d'Ouchterlony.

Par ailleurs nos résultats seraient favorables à l'hypothèse selon laquelle les germons de l'Atlantique et ceux de Méditerranée constituent deux populations distinctes.

En effet :

1) la répartition des groupes sanguins est différente entre les populations de ces deux mers ;

2) les sérums de germons pêchés en Atlantique contiennent un antigène absent des sérums de germons de Méditerranée.

En revanche nos résultats sur les thons rouges ne permettent actuellement aucune interprétation sur le plan des migrations par suite du petit nombre d'individus observés, surtout en Atlantique, mais la présence de différences individuelles immunologiques constatées chez les thons rouges méditerranéens incite à poursuivre cette étude. Il conviendrait de préciser si ces différences se retrouvent ou non en Atlantique et éventuellement de déterminer leur fréquence respective dans les deux mers.

En conclusion, les techniques sérologiques électrophorétiques, immunoélectrophorétiques et immunologiques utilisées semblent pouvoir apporter une aide précieuse à l'étude de la biologie des thons, de leurs migrations et à la reconnaissance de races ou populations chez les deux espèces de thonidés de ces deux mers. Mais il est indispensable de les appliquer à un beaucoup plus grand nombre d'individus. Il serait suffisant, à l'avenir, de se limiter à l'étude immunologique en boîte d'Ouchterlony et à l'étude sérologique des groupes sanguins, toutes deux faciles à effectuer, même à bord d'un bateau, et qui nous ont permis de détecter avec le plus de netteté des différences, d'une part entre les germons des deux mers et d'autre part entre les thons rouges de la Méditerranée.

# BIBLIOGRAPHIE


ARDRY (R.), 1951. — Recherches électrophorétiques sur le sérum humain chauffé (étude du sérum normal). — *Bull. Soc. Chim. biol.*, **33**, n° 3 et 4 : 236-41, 2 fig., 1 tabl.

AUDUBERT (R.) et MENDE (S.), 1957. — Les principes de l'électrophorèse. — Paris, Presses univ. de France édit., 201 p., 102 fig., 30 tabl.

BARIL (E.F.), PALMER (J.L.) et BARTEL (A.H.), 1961. — Electrophoretic analysis of young alligator serum. — *Science*, **133** : 278-79.

BELLOC (G.), 1953 (1954). — Les thons de la Méditerranée, résumé de nos connaissances sur la biologie et la pêche de ces poissons, 1re note : germon, pelamide et melva. — *Cons. gén. Pêches Méditerranée, Doc. techn.*, n° 49 : 283-318, fig.

BORDET (J.), 1898. — Sur l'agglutination et la dissolution des globules rouges par le sérum d'animaux injecté de sang défibriné. — *Ann. Inst. Pasteur.*, **12**, n° 10 : 688-95.

BRILES (W.), Mc GIBBON (W.) et IRWIN (M.), 1950. — On multiple alleles effecting cellular antigens in the chicken. — *Genetics*, **35** : 633-52.

BUEN (F. DE), 1931. — El supuesto paso por el estrecho de Gibraltar del atun en su emigracion genetica. — *Comm. int. Explor. sci. Méditerranée, Rapp. et P.V.*, n.s., **6** : 405-9.

CALLAMAND (O.), 1939. — Recherche sur le système lipoprotéique du sérum des Cyclostomes et des Poissons. — *Bull. Inst. océanogr.* Monaco, n° 771, 11 p., 2 fig.

CLERC (M.) et LEE (J.Y.), 1960. — Premières recherches sur l'hématologie et la sérologie des poissons (sardines du golfe du Lion). — *Comm. int. Explor. sci. Méditerranée, Rapp. et P.V.*, **16** (2) : 275-76.

COHEN (E.) et STICKLER (G.B.), 1958. — Absence of albuminlike serum proteins in turtles. — *Science*, **127**, n° 331 : 1 392, 1 fig., 1 tabl.

CORDIER (D.), BARNOUD (R.) et BRANDON, 1957. — Etude sur la protéinémie de la roussette (*Scyllium canicula* L.). — *C. R. Soc. Biol.*, Paris, 151 : 1 912-14.

COURCON (J.) et URIEL (J.), 1958. — Electrophorèse et analyse immunoélectrophorétique en milieu gélose. — *Ann. Biol. clin.*, **16** n° 3-4 : 181-89, 4 fig.

CUSHING (J.E.), 1951 (1952). — Serological differentiation of fish blood. — *Science*, **115** n° 2 989 : 404-5, 1 tabl.

— 1952. — Individual variation in the hemagglutinin content of yellowfin tuna and skipjack bloods. — *J. Immunol.*, **68** : 543-7.

— 1956. — Observation on serology of tuna. — *U. S. Fish Wildl., spec. sci. Rep.-Fish.*, n° 183, 13 p., 12 tabl.

— 1961. — Blood typing of marine animals. — *Naval. Res. Rev.*, Washington : 8-11, 2 fig.

CUSHING (J.E.) et DURALL (G.), 1957. — Isoagglutination in fish. — *Amer. Nat.*, **91** n° 857 : 121-6, 2 tabl.

CUSHING (J.E.), FUJINO (K.) et TAKAHASHI (K.), 1959. — Glycerol freezing technique as an aid in blood typing of whales. — *Sci. Rep. whales Res. Inst.*, n° 14 : 89-100, 9 tabl.

CUSHING (J.E.) et SPRAGUE (L.), 1952. — The agglutination of fish erythrocytes by normal human sera. — *Biol. Bull.*, **103** (3) : 328-35, 5 tabl.

— 1953. — Agglutinations of the erythrocytes of various fishes by human and other sera. — *Amer. Nat.*, **87** : 307-15, 4 tabl.

DEUTSCH (H.F.) et GOODLOE (M.B.), 1945. — An electrophoretic survey of various animal plasma. — *J. biol. Chem.*, **161** : 1-20.

DEUTSCH (H.F.) et Mc SHAN (W.H.), 1949. — Biological studies of blood plasma proteins. Electrophoretic studies of blood serum proteins of som lower animals. — *J. biol. Chem.*, **180** : 219-33.

DRILHON (A.), 1953. — Etude de quelques diagrammes électrophorétiques de plasmas de poissons. — *C.R. Acad. Sci.*, Paris, **237** (25) : 1 779-81, 1 graph.

— 1954. — Etude des lipoprotéides sériques chez quelques poissons au moyen de l'électrophorèse sur papier. — *C.R. Acad. Sci.*, Paris, **238** (8) : 940-2.

DRILHON (A.) et FINE (J.M.), 1957. — Les albumines chez quelques espèces de poissons. — *C. R. Acad. Sci.*, Paris, **245** (19) : 1 676-9.

— 1959. — Les protéines du sérum sanguin chez les Elasmobranches (*Scyllium catulus* et *Scylliorhinus canicula*). — *C.R. Acad. Sci.*, Paris, **248** (16) : 2 418-20, 1 fig.

DRILHON (A.), FINE (J.M.), URIEL (J.) et LE BOURDELLES (F.), 1956. — Etude électrophorétique des constituants du sérum d'Anguille. — *C.R. Acad. Sci.*, Paris, **243** (22) : 1 802-5, 2 fig.

DUJARRIC DE LA RIVIÈRE (R.) et EYQUEM (A.), 1953. — Les groupes sanguins chez les animaux (individualités sanguine et tissulaire). — Paris, Masson édit., 407 p., 10 fig., 34 tabl.

DUJARRIC DE LA RIVIÈRE (R.), MILLOT (P.) et EYQUEM (A.), 1952. — Les groupes sanguins des moutons. — *C.R. Acad. Sci.*, Paris, **234** (2) : 1 714-6, 1 fig.

ENGLE (R.L.), WOODS (K.R.), PALSEN (E.C.) et PERT (J.H.), 1958. — Plasma cells and serum proteins in marine fish. — *Proc. Soc. exp. Biol. Med.*, **98**, n° 1 : 905-9, 3 fig., 1 tabl.

FERGUSON (L.), 1941. — Heritable antigens in the erythrocytes of cattle. — *J. Immunol.*, 40 : 213-42.

FINE (J.E.) et DRILHON (A.), 1958. — Etude des protéines sériques de *Labrus bergylta* par électrophorèse de zone sur papier, gélose et gel d'amidon. — *C.R. Acad. Sci.*, Paris, **246** (22) : 3 183-86, 1 fig.

— 1960. — Analyse immunoélectrophorétique des constituants du sérum de l'Anguille. — *C.R. Acad. Sci.*, Paris, **250** (19) : 3 241-3, 1 fig.

— 1961. — Existence de globulines de faible mobilité électrophorétique dans le sérum de l'Anguille soumise à des injections répétées de sérum humain. — *C.R. Acad. Sci.*, Paris, **252** (24) : 3 891-3, 1 fig.

FINE (J.M.), GROULADE et EYQUEM (A.), 1954. — Etude par microélectrophorèse sur papier du sérum de *Vipera aspis* et *Vipera ursini*. — *Ann. Inst. Pasteur*, **86** n° 3 : 378-82, 3 fig., 2 tabl.

FINE (J.M.), GROULADE (J.), SAINT-PAUL et TIZZANI (R.J.), 1956. — L'électrophorèse sur papier. Apport de la méthode quantitative à la connaissance de la physiologie des protéines, glycoprotéines et lipoprotéines sériques chez l'homme et l'animal. — *Biol. médic.*, **45** n° 6 : 591-644, 12 fig., 3 planches, 7 tabl.

FINE (J.M.), WASZCZENKO (E.), LOEB (J.) et MOULLEC (J.), 1957. — Groupes sériques et électrophorèse sur gel d'amidon. — *Rev. Hématol.*, **12** n° 12 : 698-703, 3 fig.

FUJINO (K.), 1953. — On the serological constitution of the Sei-, Fin-, Blue- and Humpback-whales (1). — *Sci. Rep. whales Res. Inst.*, n° 8 : 103-22, 13 tabl.

— 1956. — On the serological constitution of the Fin-whales. II. Further studies on blood groups. — *Sci. Rep. whales Res. Inst.*, n° 11 : 85-98, 1 fig., 5 tabl.

— 1958. — On the serological constitution of Finwhale. III. Human - B blood group substance in erythrocytes and somes notes on Anti-Fin Ju specific antibodies. — *Sci. Rep. whales Res. Inst.*, n° 13 : 171-84, 1 fig., 5 tabl.

— 1960. — Immunogenetic and marking approaches to identifying subpopulations of the north pacific whales. — *Sci. Rep. whales Res. Inst.*, n° 15 : 85-142, 9 fig., 46 tabl.

FUJINO (K.) et CUSHING (J.E.), 1959. — Blood typing of dried whale erythrocytes with 1311 labelled antibody. — *Sci. Rep. whales Res. Inst.*, n° 14 : 101-6, 3 fig., 2 tabl.

— 1960. — Blood types in fur seals. — *Science*, **131** n° 3 409 : 1 310, 2 tabl.

GEMEROY (D.G.), 1943. — On the relationship of some Common fishes as determined by the precipitin reaction. — *Zoologica*, **28** : 109-123.

GORDON (G.), SULYA (L.L.) et BOX (B.E.), 1961. — Some evolutionary patterns in fishes blood. — *Biol. Bull.*, **121** n° 2 : 302-306, 1 tabl.

GRABAR (P.) et BURTIN (P.), 1960. — Analyse immunoélectrophorétique, ses applications aux liquides biologiques humains. — Paris, Masson édit., 294 p., 93 fig., 18 tabl.

GRABAR (P.) et WILLIAMS (C.A.), 1953. — Méthode permettant l'étude conjuguée des propriétés électrophorétiques et immunochimiques d'un mélange de protéines. Application au sérum sanguin. — *Biochim. Biophys. Acta*, **10** : 193-4, 2 fig.

GRABAR (P.) et WILLIAMS (C.A.) avec l'aide technique de Mlle COURCON (J.), 1955. — Méthode immunoélectrophorétique d'analyse de mélanges de substances antigéniques. — *Biochim. Biophys. Acta*, **17** : 67-74, 3 fig.

HAMRE (J.), 1958 (1960). — Tuna investigations in norwegian coastal waters 1954-1958. — *Cons. int. Explor. Mer, Ann. biol.*, **15** : 197-211, 4 fig., 14 tabl.

— 1959 (1961). — The norwegian tuna investigations in 1959. — *Cons. int. Explor. Mer, Ann. biol.*, **16** : 235-40, 6 fig., 4 tabl.

HELDT (H.), 1926. — Thon rouge. Résumé de nos connaissances actuelles sur le thon rouge (*Orcynus thynnus* L.) (1re partie). — *Comm. int. Explor. sci. Méditerranée, Rapp. et P.V.* n.s. **1** : 99-120.

— 1927. — Thon rouge (Second rapport). — *Comm. int. Explor. sci. Méditerranée, Rapp. et P.V.*, n.s. **2** : 137-51, 4 fig.

— 1928. — Thon rouge. — *Comm. int. Explor. sci. Méditerranée, Rapp. et P.V.*, n.s. **3** : 93-114, 3 fig.

— 1929. — Le thon rouge et sa pêche (4e rapport). — *Ibid.*, n.s. **4** : 97-112, 1 fig.

— 1930. — Le thon rouge et sa pêche (5e rapport). — *Ibid.*, n.s. **5** : 131-72, 6 fig., 1 carte.

— 1931. — Le thon rouge et sa pêche (6e rapport). — *Ibid.*, n.s. **6** : 175-288, 13 fig. bibli. imp.

— 1932. — Le thon rouge et sa pêche (7e rapport). — *Ibid.*, n.s. **7** : 203-318, 62 fig., tabl. bibl.

— 1934. — Le thon rouge et sa pêche (8e rapport). — *Ibid.*, n.s. **8** : 185-255, 48 + 1 fig.

— 1937. — Le thon rouge et sa pêche. Rapport pour les années 1933, 1934 et 1935. (9e rapport). — *Ibid.*, n.s. **10** : 235-315, 40 fig.

— 1938. — Le thon rouge et sa pêche (10e rapport). — *Ibid.*, n.s. **11** : 311-58, 10 fig., tabl.

HERMANS (J.), 1960. — Les globulines sériques du système gamma, leur nature et leur pathologie. — Bruxelles, A. RSCIA S.A. édit. et Paris Masson édit., 340 p., 72 fig., 29 tabl.

IRISAWA (H.) et IRISAWA (A.F.), 1954. — Blood serum proteins of the marine *Elasmobranchü*. — *Science*, **120** n° 3 125 : 849-51, 3 fig.

KEYVANFAR (A.), 1961. — Application des techniques sérologiques à l'étude de la biologie des thons. Méthodes et résultats préliminaires. — *Cons. int. Explor. Mer* (note présentée roneo.), 5 p. 1 tabl.

KUNKEL (H.G.) et SLATER (R.J.), 1952. — Lipoprotein patterns of serum obtained by zone. — *J. clin. Investig.*, **31** n° 7 : 677-84, 5 fig., 2 tabl.

Landsteiner (K.), 1900. — Zur Kenntnis der antifermantativen Lytischen und agglutinierenden Wirkungen der Blutserums und der Lymphe. — *Zentrabl. Bakt.*, **27** : 357-62.

— 1928. — Cell antigens and individual specificity. — *J. Immunol.*, **15** n° 6: 589-600.

Landsteiner (K.) et Levine (P.), 1925. — Observation on the specific part of the heterogenetic antigen. — *J. Immunol.*, **10** n° 4 : 731-3.

— 1927. — Further observations on individual differences of human blood. — *Proc. Soc. exp. Biol. Med.*, **24** n° 9 : 941-2, 1 tabl.

— 1930. — On the inheritance and racial distribution of agglutinable proprieties of human blood. — *J. Immunol.*, **18**, n° 2 : 87-94, 4 tabl.

La Tourasse (G. de), 1955. — Pêcheries de thons rouges et de germons au large, entre la Provence et la Corse. — *Rev. Trav. Inst. Pêches marit.*, **19** (1) : 87-91, 1 carte.

Le Gall (J.), 1949. — Résumé des connaissances acquises sur la biologie du germon. — *Rev. Trav. Off. Pêches marit.*, **15** (1-4) : 1-41, 10 fig.

Moore (D.H.), 1945. — Species differences in serum protein patterns. — *J. biol. Chem.*, **161** : 21-32.

Moullec (J.), 1949. — Techniques de détermination des groupes sanguins appliqués à la transfusion. — Paris, Masson édit., 140 p., 17 fig., 26 tabl.

Moullec (J.), 1959. — Notions essentielles sur les groupes sanguins et leur hérédité. — Paris, Centre national de transfusion sanguine, 6, rue Alexandre-Cabanel, 73 p.

Mourant (A.), 1954. — The distribution of the human blood groups. — Oxford, Blackwell. sci. Publ. édit., XXI + 438 p.

Numachi (K.), 1959. — Serological studies on relationships among oysters of different genus, species and races. — *Tohoku agric. Res.*, **10** (3) : 313-9, 1 fig. 2 tabl.

Nutall (G.H.), 1904. — Blood immunity and blood relationships. — Cambridge University Press.

Ouchterlony (O), 1948. — In vitro method for testing the toxin producing capacity of diftheria bacteria. — *Acta Pathol. Microbiol. scand.*, **25** : 186-91, 1 fig., 3 tabl.

— 1949. — Antigen-antibody reaction in gels. — *Acta Pathol. Microbiol. scand.*, **26** : 507-515, 9 fig.

— 1953. — Antigen-antibody reactions in coordinated systems of diffusion. — *Acta Pathol. Microbiol. scand.*, **32** n° 2 : 231-40, 3 fig., 1 tabl.

O'Rourke (F.J.), 1961. — An immunological and chromatographic study of *Sebastes marinus* (L.) and *Sebastes mentella* Travin. — *Cons. int. Explor. Mer, Rapp. et P.V.*, **150**, ICES/ICNAF Redfish symposium : 100-3, 4 fig.

Oudin (J.), 1946. — Méthode d'analyse immunochimique par précipitation spécifique en milieu gélifié. — *C.R. Acad. sci.*, Paris, **222** (1) : 115-6.

— 1953. — L'analyse immunochimique du sérum humain et de ses fractions. 1- Inventaire provisoire des constituants de la principale fraction de globulines. — *Ann. Inst. Pasteur.*, **85**, n° 3 : 336-47, 2 fig., 1 tabl.

— 1956. — La réaction de précipitation spécifique entre des sérums d'animaux de même espèce. — *C.R. Acad. sci.*, Paris, **242** (2) : 2 489-96.

— 1960[a]. — Allotypy of rabit serum proteins. I. Immunochemical analysis leading to the individualization of seven main allotypes. — *J. exp. Med.*, **112** (1) : 107-24, 7 fig., 1 tabl.

— 1960[b]. — Allotypy of rabit serum proteins. II. Relationships between various allotypes : their common antigenic specificity, their distribution in a sample population, genetic implications. — *J. exp. Med.*, **112** (1) : 125-42, 2 fig., 4 tabl.

— 1960[c]. — L'allotypie de certains antigènes protéidiques du sérum. Relations immunochimiques et génétiques entre six des principaux allotypes observées dans le sérum de lapin. — *C.R. Acad. Sci.*, Paris, **250** (4) : 770-2.

- 1960[d]. — Quelques aspects nouveaux de la spécificité antigénique des protéines du sérum normal. — Inst. Pasteur, *Exposés ann. Biochim. Méd.*, 14 p. ronéo, 4 fig.

Owen (R.), Stormont (C.) et Irwin (H.), 1947. — An immunogenetic analysis of racial differences in dairy cattle. — *Genetics*, **32** : 64-74.

Podliachouk (L.), 1957. — 1) Les antigènes de groupes sanguins des équidés et leur transmission héréditaire. 2) Les subtances des groupes sanguins. — Thèse Fac. Sci. Univ. Paris, 102 p., 35 tabl.

Raynaud (R.), Eshougues (J.R. d'), Pasquet (P.) et Giovanni (S. di), 1953[a]. — Technique d'étude des lipoprotéines sériques au moyen de l'électrophorèse sur papier. — *Ann. Biol. clin.*, **11**, n° 7-9 : 377-83, 6 fig.

— 1953[b]. — Intérêts cliniques de l'exploration des lipoprotéines sériques dans les syndromes thrombo-artéritiques chroniques des membres. — *Algérie médic.*, **57** : 685-719, 10 fig., 2 tabl.

Ridgway (G.J.), 1957. — The use of immunological techniques in racial studies. Contribution to the study of subpopulations of fishes. — *U.S. Fish Wildl., spec. sci. Rep.-Fish.*, n° 208 : 39-43, 1 fig.

Ridgway (G.J.) et Klontz (G.W.), 1960. — Blood types in pacific salmon. — *U.S. Fish Wildl., spec. sci. Rep.-Fish*, 9 p., 7 tabl.

Ridgway (G.J.), Cushing (J.E.) et Durall (G.L.), 1958. — Serological differentiation of populations of Sockeye salmon, *Oncorhynchus nerka*. — *U.S. Fish Wildl. spec. sci. Rep.-Fish.*, n° 257, 9 p., 1 fig., 3 tabl.

Rivas (L.R.), 1954. — A preliminary report on the spawning of the western north atlantic bluefin tuna (*Thunnus thynnus*) in the straits of Florida. — *Bull. mar. Sci. Gulf Caribb.*, **4** (4) : 302-22, 3 fig., 5 tabl. (Et *Contrib. mar. Lab. Univ. Miami*, **130**).

— 1961. — A review of the tuna fishes of the subgenera *Parathunnus* and *Neothunnus* (*Genus Thunnus*). — *Ann. Mus. Stor. nat.*, Gênes, **72** : 126-48, 5 tabl.

Rodriguez-Roda (J.), 1960. — Marcacion de atunes, *Thunnus thynnus* (L.), en el golfo de Cadiz. — *Inst. Invest. Pesq.* 4e réunion 10-14 oct. 1960 Barcelone, 1 vol. ronéo : 89-90.

Roule (L.), 1917. — Etude sur les aires de ponte et les déplacements périodiques du thon commun (*Orcynus thynnus* L.) dans la Méditerranée occidentale ; conséquences quant à l'extension rationnelle de la pêche de ce poisson. — *Ann. Inst. océanogr.*, **7** (7), 26 p., 2 tabl.

Sanzo (L.), 1925. — Mova e larve di Alalonga (*Orcynus germo* Ltkn ). — *R.C. Acc. naz. Lincei*, **1** s. Ga (3).

— 1933. — Mova e primi stadi larvali di Alalonga (*Orcynus germo* Ltkn ). — *R. Com. talass. ital.*, Messine mem. 198, 10 p., 1 pl., h.t.

Scheinberg (C.), 1956. — Genetic studies of cellular antigens in the chicken. — *Genetics*, **41** : 834-44.

Scordia (C.), 1931. — Per la biologia del tonno (*Thunnus thynnus* L.). II. Osservazioni eseguite nella tonnara di Biorona (Vibo Valentra Marina, Calabria) nel Maggio-Giugno 1930. — *Mem. Biol. Mar. Océanogr.*, Messine, **1** n° 3, 78 p., 7 fig., 5 pl. h.t.

— 1932. — Per la biologia del tonno (*Thunnus thynnus* L.). III. Osservazioni sui tonni dello stretto di Messina. — *Ibid.*, **2** n° 1, 91 p., 7 fig., tabl.

— 1938. — Per la biologia del tonno (*Thunnus thynnus* L.). XV. Le migrazioni dei tonni entro il Medeterraneo. — *Ibid.*, **5** n° 8, 50 p., 5 fig., 1 pl. h.t.

Sella (M.), 1952. — Migrazioni e habitat del tonno (*Thunnus thynnus* L.) studiati col metodo degli ami, con osservazioni su l'accrescimento, sul regime delle tonnare ecc. — *Rapp. Com. talass. ital.*, mém. 156, 24 p., 2 fig. (Et *U.S. Fish Wildl., spec. sci. Rep.-Fish.*, n° 76).

Sindermann (C.J.), 1960 (1961). — Serological studies of atlantic redfish. — *U.S. Fish Wildl., Fish Bull.*, **61** n° 191 : 351-54.

Sindermann (C.J.) et Mairs (D.F.), 1959. — A major blood group system in atlantic sea herring. — *Copeia.*, n° 3 : 228-32, 1 fig., 3 tabl.

— 1961. — A blood group system for spiny dog-fish, *Squalus acanthias* L. — *Biol. Bull.*, **120** (3) : 401-10, 5 tabl.

Stormont (C.), Owen (R.) et Irwin (M.), 1951. — The Band C systems of bovine blood groups. — *Genetics*, **36** : 134-61.

Sulya (L.L.), Box (B.E.) et Gordongunter, 1960. — Distribution of some blood constituents in fishes from the gulf of Mexico. — *Amer. J. Physiol.*, **199** n° 6 : 1 177-80, 1 tabl.

— 1961. — Plasma proteins in the blood of fishes from the gulf of Mexico. — *Amer. J. Physiol.*, **200**, n° 1 : 152-4, 1 fig.

Suzuki (A.), 1961. — Serological studies of the races of tuna. V. The blood groups of the yellowfin tuna. — *Rep. Nankai reg. Fish. Res. Lab.*, n° 13 : 53-67, 14 tabl.

Suzuki (A.) et Morio (T.), 1959. — Serological studies of the races of tuna. III. Preliminal investigation on the antigens in tunas sera by agar-plate-diffusion method. — *Rep. Nankai reg. Fish. Res. Lab.*, n° 11 : 165-73, 1 pl., 2 fig., 3 tabl.

— 1960. — Serological studies of the races of tuna. IV. The blood groups of the bigeye tuna. *Ibid.*, n° 12 : 1-13, 12 tabl.

Suzuki (A.), Morio (T.) et Mimoto (K.), 1959. — Serological studies of the races of tuna. II. Blood groups frequencies of albacore in Tg-system. Part I. Comparaison of the indian and the northwestern Pacific Ocean. — *Rep. Nankai reg. Fish. Res. Lab.*, n° 11 : 17-23, 3 tabl.

Suzuki (A.), Shimizu (J.) et Morio (T.), 1958. — Serological studies of the races of tuna. I. The fundamental investigations and the blood groups of albacore. — *Rep. Nankai reg. Fish. Res. Lab.*, n° 8 : 104-16, 11 tabl.

Swahn (B.), 1953. — A micromethod for the determination of serum lipids after electrophoretical separation on filter paper. — *Scand. J. clin. Lab. Inv.*, **5** (suppl. 9) : 45-79, 23 fig., 2 tabl.

Triplett (E.L.), Cushing (J.E.) et Durall (G.L.), 1958. — Observations on some immune reactions of the sipunculid worm *Dendrostomum zostericolum*. — *Amer. Nat.*, **92** n° 866 : 287-93, 2 tabl.

Uriel (J.) et Grabar (P.), 1956a. — Emploi de colorants dans l'analyse électrophorétique et immunoélectrophorétique en milieu gélifié. — *Ann. Inst. Pasteur*, **90** n° 4 : 427-40, 1 planche.

— 1956b. — Etude des lipoprotéines sériques par l'électrophorèse en gélose et l'analyse immunoélectrophorétique. — *Bull. Soc. Chim. biol.*, **38** n° 11 : 1 253-69, 6 fig.

Uriel (J.), Gotz (H.) et Grabar (P.), 1957. — Etude de la ceruloplasmine du sérum humain par l'électrophorèse en gélose et l'analyse immunoélectrophorétique. Microdétection colorimétrique du cuivre lié aux protéines. — *J. suisse Médec.*, **87**, n° 14 : 431-40, 4 fig., 1 tabl.

Uriel (J.), Fine (J.M.), Courcon (J.) et Le Bourdelles (F.), 1957. — Contribution à l'étude des protéines et lipoprotéines des sérums. — *Bull. Soc. Chim. biol.*, 39 n° 12 : 1 415-27, 6 fig., 2 tabl.

Wunderly (Ch.). — Electrophorèse sur papier. Méthodes et résultats. (Trad. de l'allemand par Gregoire (J.) et Raynaud (J.), 1956). — Vigot fres édit., 23, rue de l'Ecole de Médecine, Paris 6e, 130 p., 46 fig., 30 tabl.

Zaks (M.G.) et Sokolova (M.M.), 1961. — (Différences immunosérologiques entre certaines populations de *Oncho-rynchus nerka*). (En russe). *Voprosy Ikhtiol.*, **1** (4) : 707-15, 3 fig., 5 tabl.

# TABLE DES FIGURES


| Figures | | Pages |
|---|---|---|
| 1. | — Technique de prélèvement du sang par la voie du sinus veineux avec une seringue | 11 |
| 2. | — Technique de prélèvement du sang par ponction cardiaque à l'aide d'une pipette à boule | 12 |
| 3. | — Réaction d'agglutination en tube à hémolyse | 17 |
| 4. | — Réaction d'agglutination sur plaque de verre | 18 |
| 5. | — Appareil pour l'électrophorèse en gélose | 25 |
| 6. | — Schéma en coupe de l'appareil pour l'électrophorèse en gélose | 27 |
| 7. | — Protéinogrammes des germons de l'Atlantique et de la Méditerranée | 30 |
| 8. | — Enregistrement photométrique d'un protéinogramme de germon | 31 |
| 9. | — Protéinogrammes des thons rouges de l'Atlantique et de la Méditerranée | 32 |
| 10. | — Enregistrement photométrique d'un protéinogramme de thon rouge | 32 |
| 11. | — Lipoprotéinogrammes de germons de l'Atlantique et de la Méditerranée | 34 |
| 12. | — Superposition du lipoprotéinogramme et du protéinogramme d'un germon | 35 |
| 13. | — Lipoprotéinogrammes des thons rouges de l'Atlantique et de la Méditerranée | 36 |
| 14. | — Superposition du lipoprotéinogramme et du protéinogramme d'un thon rouge | 36 |
| 15 à 18. | — Recherche de différences antigéniques entre le germon et le thon rouge | 39 |
| 19 à 22. | — Recherche de différences antigéniques entre les germons de l'Atlantique et de la Méditerranée | 40 |
| 23 à 25. | — Recherche de différences antigéniques entre les thons rouges de l'Atlantique et de la Méditerranée | 41 |
| 26. | — Comparaison des constituants du sérum de germon avec ceux du sérum humain normal : schémas d'analyses immunoélectrophorétiques | 43 |
| 27. | — Démonstration par immunoélectrophorèse de la communauté antigénique entre les sérums de germons de l'Atlantique et de la Méditerranée | 44 |
| 28. | — Comparaison des constituants du sérum de thon rouge avec ceux du sérum humain normal : schémas d'analyses immunoélectrophorétiques | 45 |
| 29. | — Démonstration par immunoélectrophorèse de la communauté antigénique entre les sérums de thons rouges de l'Atlantique et de la Méditerranée | 46 |
| 30. | — Aspects immunoélectrophorétiques des constituants protéiques des sérums de thons rouges et de germons de l'Atlantique et de la Méditerranée | 47 |
| 31. | — Démonstration par immunoélectrophorèse de la communauté antigénique entre les sérums de germon et de thon rouge (immunsérum 319) | 48 |
| 32. | — Démonstration par immunoélectrophorèse de la communauté antigénique entre les sérums de germon et de thon rouge (immunsérum 321) | 49 |

## DEUXIÈME THÈSE

---

PROPOSITION DONNÉE PAR LA FACULTÉ

# Morphologie des leucocytes et pourcentage leucocytaire chez quelques espèces de poissons de profondeur

---

**Vu et approuvé :**

*Paris, le 5 avril 1962.*

**Le Doyen de la Faculté des Sciences,**

Marc ZAMANSKY

Vu

et Permis d'imprimer :

**Le Recteur de l'Académie de Paris,**

Jean ROCHE